

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Frecuencia de *Toxoplasma gondii* en gatos en Lima
Metropolitana y concordancia entre las técnicas de
inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación
indirecta**

TESIS

para optar el título de Médico Veterinario

AUTOR

Luis Fernando Cerro Temoche

ASESORA

Amanda Chávez

Lima-Perú

2007

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS	iii
RESUMEN	iv
SUMARY	v
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Historia	3
2.2 Agente	4
2.3 Epidemiología	6
2.4 Bioquímica del parásito	10
2.5 Transmisión y Patogenia	12
2.6 Respuesta inmunológica	14
2.7 Toxoplasmosis humana	17
2.8 Toxoplasmosis animal	20
2.9 Diagnóstico	30
3.0 Prevención y control	37
3.1 Tratamiento	39
IV MATERIALES Y MÉTODOS	42
4.1 Ubicación geográfica y procedencia de las muestras	42
4.2 Diseño estadístico	42
4.2.1 Tamaño de la muestra	42
4.2.2 Recolección de las muestras	43
4.2.3 Procesamiento de las muestras	43
4.3 Análisis de datos	45
V RESULTADOS	48
VI DISCUSIÓN	50
VII CONCLUSIONES	56
VIII BIBLIOGRAFÍA CITADA	57

Lista de Cuadros

		Pág.
Cuadro 1	Frecuencia de anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> mediante las técnicas de HAI e IFI, según edad y sexo, en gatos en Lima, 2007	48
Cuadro 2	Titulación y clasificación de la fase clínica de sueros positivos a <i>T.gondii</i> según la técnica de HAI (con y sin Mercaptoetanol), en gatos de Lima, 2007.	49
Cuadro 3	Distribución de los sueros de gatos según los resultados de las técnicas de HAI e IFI para la detección de anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> , en la ciudad de Lima, 2007	49

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en gatos de Lima Metropolitana. Además, estimar el grado de concordancia entre las técnicas de diagnóstico de inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación indirecta. Se analizaron las muestras de sueros de 178 gatos, obtenidas de diferentes clínicas veterinarias de Lima Metropolitana. Los resultados mostraron una frecuencia de reactores a *Toxoplasma gondii* de 17.9% con un intervalo de confianza de 95% entre 12.0 y 23.5% para la técnica IFI y 11.2% con un intervalo de confianza de 95% entre 6.6 y 15.8% para la técnica HAI. La evaluación de reactores según edad y sexo, no mostraron diferencia estadística significativa ($p>0,05$). Por otro lado, al evaluar el grado de concordancia entre ambas pruebas se halló un valor de Kappa (K) igual a 0.73 indicando que el grado de concordancia entre ambas pruebas fue del tipo sustancial; mientras que con la prueba de Mc Nemar se encontró significancia estadística ($p<0.05$), entendiendo que las pruebas no pueden ser reemplazadas mutuamente.

Palabras claves: HAI, IFI, felinos domésticos, toxoplasmosis, Lima

SUMMARY

The aim of the present work was to estimate the frequency of Toxoplasmosis in cats in the city of Metropolitan Lima. Aside from determining the rate of concordance between the Indirect immunofluorescence (IFI) and Indirect haemagglutination (HAI) Assays, two of the very common diagnostic tests for Toxoplasmosis in our area, a number of 178 cat serum samples, collected in veterinary clinics of this city, were analyzed. The results determined a frequency of reactors to *Toxoplasma gondii* in 17.90% with a 95% confidence interval (CI) between 12.00% and 23.50% for IFI test and in 11.20% with a 95% confidence interval (CI) between 6.60% and 15.80% for HAI test. The evaluation of reactors, according to age and sex, did not provide statistically significant difference ($p > 0, 05$). On the other hand, when the rate of concordance among both assays was tested, there was a value of Kappa (K) similar to 0.73 indicating that the concordance is substantial between the two test; while in Mc Nemar's test, there was statistically significant difference ($p < 0.05$), indicating that both tests cannot be replaced reciprocally.

Key words: HAI, IFI, cats domestic, Toxoplasmosis, Lima.

I. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis constituye una de las enfermedades zoonóticas de amplia distribución mundial: causada por un protozoo del Phylum Apicomplexa intracelular obligatorio (Mereiles, 2001), y cuyo descubrimiento se remonta a la primera década del siglo XX.

Este protozoo se encuentra en todas las latitudes afectando a humanos y a diversas especies de mamíferos domésticos silvestres y aves en el ámbito mundial, sin embargo, en la mayoría de las infecciones agudas pasa desapercibida por el paciente y por el médico. Cerca de la tercera parte de la humanidad ha sido expuesta a este parásito. En la mayoría de los adultos no causa alteraciones serias; sin embargo puede causar ceguera y retardo mental en niños por una infección congénita y una devastadora enfermedad en individuos inmunocomprometidos (Hill y Dubey, 2002).

La transmisión de la infección está relacionada a la presencia ambiental de felinos, hospederos definitivos de un ciclo complejo que compromete a todos los animales de sangre caliente como hospederos intermediarios, desde las aves a delfines, pasando por todos los animales de producción de carne, estos hospederos albergan quistes titulares latentes para toda la vida, completándose el ciclo cuando éstos se tornan presas de los felinos (Atias y Thiermann, 1994).

Estudios realizados en nuestro medio demostraron que la toxoplasmosis es causante del 80% de los casos de uveítis parasitaria presentados en el INO (García, 2002).

Debido a que el felino desempeña un importante papel dentro del ciclo del parásito tanto como hospedero definitivo e intermediario, lamentablemente no se cuentan con estudios en Lima que indiquen la frecuencia de presentación de *Toxoplasma gondii* en felinos. Por lo que el objetivo del estudio fue estimar la frecuencia de *T. gondii* en gatos en Lima metropolitana. Además estimar el grado de concordancia entre las técnicas de diagnóstico más utilizadas como la inmunofluorescencia (IFI) y la aglutinación indirecta (HAI).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia

El toxoplasma fue descubierto simultáneamente por Splendore en 1908, en un conejo de laboratorio en San Paulo, en Brasil, y por Nicolle y Mancelaux, en el gundi, roedor africano entonces usado en la búsqueda de la Leishmaniasis en el Instituto Pasteur de Túnes (Meireles, 2001). Estos hallazgos en distintos países y diferentes especies, vaticinaban la amplia distribución geográfica de hospederos, suposiciones que fueron afirmadas posteriormente (Amato Neto *et al.*, 1995).

Son numerosos los estudios realizados con el objetivo de revelar las características de su ciclo biológico, las posibles pruebas de diagnóstico y las medidas de control y prevención. Es importante destacar que las primeras descripciones de toxoplasmosis humana fueron realizadas por Castellani, en 1913; pero se toma conciencia de su existencia gracias a los estudios del oftalmólogo checo Janku, en 1923, cuando describió la presencia de toxoplasma en la retina de un niño que había fallecido con un cuadro de coriorretinitis acompañada con microftalmia (citado por Pantoja y Pérez, 2001). Poco después, en 1927, Torres en Río de Janeiro describía la presencia del microorganismo en cortes histológicos de musculatura cardíaca, esquelética y de cerebro de un recién nacido con 29 días de vida, iniciando especulaciones acerca de la posibilidad de ocurrencia de la enfermedad congénita (Meireles, 2001). Diez años más tarde, en 1937, Wolf y Cowen describían la enfermedad congénita causada por el *Toxoplasma gondii* y en la década de los 40, mientras que Pikerton y Weinman relataron la toxoplasmosis aguda en adultos (citado por Amato Neto *et al.*, 1995).

En el año 1948, Sabin y Feldman pusieron en marcha la primera técnica serológica de diagnóstico, basada en la inhibición de la coloración que experimentan los toxoplasmas cuando se ponen en contacto con anticuerpos específicos (Pantoja y Pérez, 2001). En ese mismo año Frenkel introdujo la prueba de sensibilidad cutánea a la toxoplasmina en el reconocimiento de la parasitosis. Por otro lado, en 1957 fue introducida la reacción de hemaglutinación por Jacobs y Lunde y, en 1962, la inmunofluorescencia indirecta por Kelen *et al.* (Mereiles, 2001).

Desde el punto de vista epidemiológico, se destaca el aporte realizado por (Hutchinson, 1965) (citado por Pantoja y Pérez, 2001), al observar una forma infectante y resistente del *Toxoplasma* en las heces del gato y trabajos posteriores demostraron el ciclo sexual en el intestino del mismo. Este hecho alertó acerca de la importancia del gato en el ciclo como hospedero definitivo y, por lo tanto, en la transmisión de la enfermedad. Desde estos hechos hasta la fecha se ha continuado profundizando las investigaciones relacionadas con la toxoplasmosis, por tratarse de una zoonosis de amplia distribución mundial.

2.2. Agente

2.2.1. Taxonomía

Clasificación taxonómica (Smith, 1991)

- Reino: Protozoa
- Phylum: Apicomplexa
- Clase: Sporozoea
- Sub clase: Coccidia
- Orden: Eucoccidiida
- Suborden: Eimeriina
- Familia: Sarcocystidae
- Género: *Toxoplasma*
- Especie: *Toxoplasma gondii*

El nombre del género es derivado de Toxon, palabra griega que significa arco y se refiere a la forma que los taquizoítos se presentan *in vitro*. El nombre de la especie deriva de el roedor *Ctenodactylus gondii*, del cual el *Toxoplasma gondii* fue aislado por primera vez (Black y Boothroyd, 2000).

2.2.2. Ciclo biológico y características biológicas

El *Toxoplasma gondii*, eucariota intracelular obligatorio, ya fue aislado en varios tejidos vivos y células nucleadas y en líquidos orgánicos, como sangre, linfa, saliva, leche (calostro), exudados, espermatozoides y líquido peritoneal (Meireles, 2001).

Estructuralmente, el agente presenta un anillo polar, conoide, microtúbulos, micronemas, microporo, gránulos densos, roptrias y una membrana triple (una externa y dos internas discontinuas) características propias que lo difiere de otros protozoarios. Cada una de estas estructuras es formada por proteínas relacionadas con la invasión, formación de la vacuola parasitófora y mantenimiento del parásito en el interior de la célula hospedera (Black y Boothroyd, 2000).

El ciclo biológico del *Toxoplasma gondii* se divide en dos partes: un ciclo sexual que ocurre por gametogonia en las células epiteliales del intestino delgado del hospedero definitivo (felinos domésticos y silvestres) y un ciclo asexual que ocurre en los tejidos extraintestinales de los hospederos intermediarios: animales de sangre caliente, incluido el hombre, aves e incluso los propios félidos (Acha y Szyfres, 2003).

a) Ciclo de vida enteroepitelial o intestinal

Se realiza sólo en el hospedero definitivo (gato y felinos silvestres) (Leguía y Casas, 1999). Se inicia con la ingestión del quistezoíto que contiene a los bradizoítos (por carnivorismo) y/o del ooquiste (por contaminación) por el gato y otros félidos, en cuyas células intestinales realiza cinco tipos de reproducción asexual, y luego, la reproducción sexual, para generar los ooquistes, que se eliminan conjuntamente con las heces (Rojas, 2003).

b) Fase esporogónica La esporulación ocurrirá en el medio externo en 1-5 días haciéndose infectivo y dando origen, en el interior del ooquiste, a dos esporoquistes conteniendo cuatro esporozoítos cada uno (Meireles, 2001)

c) Fase extraintestinal o tisular

Se produce en los hospederos intermediarios y que incluye además al propio gato (Leguía y Casas, 1999). Los ooquistes ingeridos y digeridos dejan libres a los esporozoítos que se dividen rápidamente en las células intestinales y en los linfonódulos asociados generando taquizoítos (Meireles, 2001), que entrarán al torrente circulatorio y/o linfáticos para ubicarse en varios tejidos y efectuar:

1. Una primera esquizogonia o reproducción rápida. Es la fase aguda de la infección, donde por endodiogenia en las células de sistema fagocítico mononuclear, se reproducen los taquizoítos.
2. Una segunda esquizogonia o reproducción lenta. Es la fase crónica de la infección, donde por endodiogenia en las células de distintos tejidos: muscular, nervioso, etc., se reproducen los bradizoítos, en el interior de un continente intracitoplasmático, que se conoce como Quistezoito o microquistes tisulares Cistozoíto o Pseudoquiste, que distiende a la célula alcanzando 10-60 μm de tamaño.

La ingestión de taquizoíto y bradizoítos por la presa, recicla la fase extraintestinal; mientras si lo hace el predador, se inicia la fase entérica o intestinal (Rojas, 2003).

2.3 Epidemiología

2.3.1 Agente

2.3.1.1 Formas infectantes

Ooquiste

Ooquistes se forman sólo en los felinos domésticos y salvajes (Dubey, 2004). Es una forma infectante proveniente de la reproducción sexual del parásito (gametogonia) en el interior de las células del epitelio intestinal de los felinos (Meireles, 2001). Miden $12 \times 10 \mu\text{m}$, y son una fuente potencial de infección para los felinos. Un solo gato puede eliminar al medio ambiente por día más de un millón de ooquistes después de 5 a 10 días de la infección inicial. Los ooquistes bajo condiciones ambientales con suficiente aireación, humedad y calor esporulan entre los 1-5 días (Tenter *et al.*, 2000). El ooquiste esporulado contiene dos esporoquistes, cada esporoquiste contiene 4 esporozoítos los cuales miden $6 \times 8 \mu\text{m}$ (Dubey, 2004).

Bajo condiciones de laboratorio los ooquistes esporulados sobreviven en almacenamiento a 4°C por encima de los 54 meses y en congelamiento a -10°C durante 106 días. Sin embargo, éstos mueren por calentamiento a $55-60^{\circ}\text{C}$ (Tenter *et al.*, 2000). En cuanto a los métodos de desinfección convencional, se puede afirmar que el ooquiste es resistente por una hora a la tintura de yodo a 2%, solución sulfocrómica, etanol a 95%, hidróxido de sodio y ácido hipocloroso al 10% (Amato Neto *et al.*, 1995).

Taquizoítos

Se presenta en forma de arco, midiendo aproximadamente, 4 a $9 \mu\text{m}$ (Meireles, 2001). Puede estar en fluidos extracelulares o dentro de distintas células nucleadas. Los taquizoítos se multiplican asexualmente por repetidas endodiogonias dentro de las células. La endodiogonia es un tipo especializado de división en el cual un taquizoíto da lugar a dos células hijas dentro de la célula madre, crecen y rompen la membrana materna. El proceso de multiplicación continúa hasta ocupar la célula. El taquizoíto juega un papel importante en la transmisión vertical del *Toxoplasma gondii* y es, muy sensible a condiciones medioambientales, deshidratación y variaciones osmóticas. Por lo que son rápidamente eliminados fuera del hospedero (Tenter *et al.*, 2000).

Bradizoítos

Los bradizoítos son las formas asexuales, con metabolismo lento, midiendo, aproximadamente, 7 x 1,2 µm. Están presentes durante la fase crónica de la infección. Esta forma infectante es responsable de la transmisión de esta zoonosis a través del carnivorismo e ingestión de carne cruda o mal cocida. Los quistes pueden encontrarse en cualquier órgano, pero predominan en el SNC y en el tejido muscular (corazón, y músculo esquelético estriado), donde pueden persistir en fase de latencia durante toda la vida, siendo capaces de reactivarse (Meireles, 2001).

Aunque los quistes titulares son menos resistentes a las condiciones medioambientales que los ooquistes, éstos son relativamente resistentes a cambios de temperatura, manteniéndose activos en refrigeración (1-4° C) carcasas o carne picada por encima de 3 semanas, además puede sobrevivir al congelamiento entre temperaturas de -1 a -8 ° C por una semana. Sin embargo la mayoría de estos quistes titulares son muertos a temperaturas por debajo de -12 ° C. Por el contrario, los quistes titulares son destruidos a temperaturas por encima de los 60 ° C (Tenter *et al.*, 2000).

2.3.2 Hospedero

Los felinos son el punto clave de la epidemiología de la toxoplasmosis, siendo los únicos hospederos de la forma sexual, y definitivos del parásito. La eliminación de los ooquistes en las heces, son la única fuente de infección de los animales herbívoros. En estos animales como en los porcinos, roedores y otros ocurre el ciclo extraintestinal con proliferación de taquizoítos en los órganos, y con la respuesta inmune, se reproducen los bradizoítos, éstos permanecen viables y son infectantes para los gatos, como para otros hospederos intermediarios, como el hombre y el perro. En éstos últimos la infección generalmente puede acontecer por la ingestión de ooquistes presentes no solo en los alimentos de origen vegetal, estando presentes también en las carnes como quistes tisulares (Langoni *et al.*, 2001).

Estudios de seropositividad realizados en gatos en diversos países muestran que alrededor del 64% son seropositivos a *Toxoplasma gondii*; y es importante mencionar

que la tasa de infección en ellos es determinada por la tasas de infección en poblaciones de aves y roedores, debido a que se infectan al comerlos (Soulsby, 1987).

Para los hospederos intermediarios, especialmente ovejas y cabras, la fuente de infección más importante son las pasturas contaminadas con ooquistes y la contaminación del agua de bebida (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). El riesgo de una infección por *Toxoplasma gondii*, es más alta en ganado criado con manejo extensivo que en los de manejo intensivo. Ovinos y caprinos en pasturas muestran una alta seropositividad en muchos países (Dumétré y Dardé, 2003). Por otro lado, en los camélidos, la infección ocurre a través de pastos contaminados, donde los animales son concentrados para realizar las actividades de manejo (Novoa y Flores, 1991).

La importancia de esta enfermedad radica en la gravedad de la infección congénita y sus secuelas (Acha y Szyfres, 2003). La toxoplasmosis congénita se desarrolla por el pasaje de taquizoítos a través de la placenta al feto. Asumiendo un normal sistema inmune, esta forma de infección sólo ocurre cuando una mujer embarazada desarrolla una infección primaria. El riesgo de una infección por toxoplasmosis congénita en una madre con infección primaria incrementa durante el embarazo, de 0% a 9% en el primer trimestre hasta un 35% a 59% en el tercer trimestre teniendo afortunadamente éste último consecuencias menos severas para el feto (Kravetz y Federman, 2005).

2.3.3 Medio ambiente

Las diferentes tasas de infección humana y animal obtenidas en diversos países del mundo se deben a diferentes factores como la localización geográfica, condiciones ambientales, hábitos culturales, tipo de fauna, grado de desenvolvimiento del país e infraestructura hídrica y sanitaria (Meireles, 2001).

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria de carácter cosmopolita, habiendo sido diagnosticada mediante encuestas seroepidemiológicas en climas muy diversos. Las características del medio influyen en la prevalencia, siendo mayor en

regiones cálidas y/o húmedas, y más baja en climas secos y fríos (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Cuando los ooquistes encuentran condiciones favorables en el ambiente externo (agua, terreno húmedo, temperatura de alrededor de 25° C y suficiente oxígeno) alcanzan su estado infectante en un lapso de 1-3 días. Esto ayuda a explicar la alta prevalencia de la toxoplasmosis en zonas templadas, tropicales y subtropicales (Leguía, 2002) Los ooquistes mantenidos a temperaturas entre 10 a 25 ° C son infectivos hasta los 6 meses, los periodos se acortan a medida que aumenta la temperatura, perdiendo su capacidad infectiva en un minuto a 60° C (Dubey, 1994). Los ooquistes además tienen la mayor capacidad infectiva que los bradizoítos y taquizoítos a través de la infección oral (Soulsby, 1987).

Los departamentos de la selva como San Martín y Loreto, la ceja de selva en los departamentos de la sierra, como Huancavelica, Pasco y Cuzco; y en la costa, La Libertad, Piura, Lima y Ancash, son regiones enzoóticas debido a la alta densidad de gatos, así como las condiciones ecológicas favorables para su desarrollo y mantenimiento, por lo que la infección se encuentra presente en todos los departamentos del país.

Por sus características epidemiológicas, la región de la selva posee la mayor prevalencia de reactores humanos a la toxoplasmosis, le sigue la costa y con menor frecuencia la sierra. En 1986, la prevalencia de toxoplasmosis en la selva central fue entre 75 y 85 % en las diferentes comunidades estudiadas, pudiendo ser considerada como una de las tasas de prevalencias más altas del mundo (INEI, 1994).

2.4 Bioquímica del parásito

La superficie externa del taquizoíto está recubierta, por proteínas, con peso molecular que varía entre los 22 a 43 kDa, estas moléculas contienen glicosilfosfatidilinositol sirviendo como puente de anclaje para estas proteínas (Scout, 2004).

Muchos científicos han enfocado sus esfuerzos para mejorar las pruebas de diagnóstico para la toxoplasmosis y desarrollar una vacuna la cual pueda prevenir o atenuar la enfermedad. Muchos de estos trabajos se han centrado en la SAG1 o P30, la proteína de superficie más abundante del taquizoíto que representa hasta un 5% del total de proteínas del taquizoíto y no es expresada en bradizoítos y esporozoítos (Kim *et al.*, 1994). La P30 es uno de los antígenos reconocidos en el suero humano y, por ser muy inmunogénica, induce a la producción de anticuerpos IgG, IgM e IgA, pudiendo ser utilizada en el diagnóstico de la infección aguda en adultos o en la forma congénita (Meireles, 2001).

La P22, otra proteína de superficie de los taquizoítos, ya fue clonada, expresada y usada para estimular la producción de anticuerpos IgG. Su menor capacidad de estimular la síntesis de IgA e IgM sugiere que esta molécula puede ser usada como marcador de infección tardía.

La P28 es un antígeno intracelular sintetizado por los taquizoítos, y está presente en los gránulos densos siendo el menor componente de la red reticular secretada en la vacuola parasitaria.

La P23, presente en los gránulos densos de los taquizoítos y bradizoítos, es secretada por el parásito en la red reticular de las vacuolas parasitarias y fácilmente detectadas en el suero de los pacientes con infección crónica, lo que no sucede en la infección aguda (Wong y Remington, 1993).

Los taquizoítos en las células secretan o excretan hasta el 90% de los tipos de antígenos de toxoplasma que circulan en el hospedero, más allá de eso, son altamente inmunogénicos, desencadenando una respuesta tanto celular como humoral (Meireles, 2001).

2.5 Transmisión y Patogenia

2.5.1 Transmisión de la toxoplasmosis

La toxoplasmosis, es transmitida de diversas maneras en forma natural, cuya importancia dependerá de la especie animal involucrada y el sistema de producción practicado. Existen tres formas de transmisión: 1) mediante contaminación fecal, por ingestión de ooquistes, donde tiene rol importante los vectores cucarachas y moscas 2) mediante carnivorismo, por ingestión de bradizoítos y taquizoítos en carne cruda e insuficientemente cocida; y 3) congénita transplacentaria y transmamaria mediante los taquizoítos (Silva *et al.*, 1981). Sin embargo, factores como la localización geográfica o hábitos culturales de una población pueden variar el curso de la infección por ejemplo la alta prevalencia en Francia se relaciona a los hábitos alimenticios por ingerir alimentos crudos o mal cocidos. En contraste, la alta prevalencia en América central y América del sur es por elevada contaminación del medio ambiente por los ooquistes (Hill y Dubey, 2002).

El ooquiste constituye el eslabón más importante de la cadena epidemiológica del toxoplasma, la infección humana se da por la ingestión de los ooquistes contaminantes en las frutas y verduras mal lavadas y, por la ingestión de quistes tisulares en la carne cruda o mal cocida (Meireles, 2001). La ingestión de ooquistes en agua, suelo o alimento es probablemente la ruta más común para los mamíferos no carnívoros y aves (Dumetré y Dardé, 2003). Siendo la transmisión vertical poco frecuente en los gatos (Tenter *et al.*, 2000).

Si bien es cierto, hay referencia de casos adquiridos por consumo de leche materna, ésta no es considerada una vía importante, pues su frecuencia no es conocida. Por el contrario, la leche de cabra no pasteurizada ha sido implicada como medio de infección de la toxoplasmosis. En un estudio se inoculó ooquistes a caprinos hembras. Los resultados mostraron la presencia de taquizoítos en la leche de estas cabras. Los taquizoítos presentes en la leche pueden ser inactivados por las enzimas gástricas; Sin embargo, se ha descrito toxoplasmosis adquirida en niños alimentados con leche cruda de cabra, los taquizoítos presentes en la leche pudieron haber penetrado la mucosa bucal

o faríngea, sin embargo también es posible que la leche podría neutralizar las enzimas gástricas y los taquizoítos escapen de la destrucción y penetren la mucosa del duodeno (Smith, 1991).

Se ha demostrado que es posible la transmisión a través de órganos de donantes seropositivos a los receptores seronegativos. La enfermedad puede desarrollarse como una reactivación de una toxoplasmosis latente, o debido a una infección primaria adquirida por la extensión del parásito desde un órgano. El parásito puede localizarse en el ojo y provocar corioretinitis, o puede diseminarse entre diversos órganos, siendo fatal en algunos casos (Galván *et al.*, 2005). Se hizo un seguimiento a 121 pacientes con transplante de corazón en Suiza, encontrándose nuevas infecciones de *Toxoplasma gondii* en 16 personas mostrándose en 5 de ellas manifestaciones clínicas; 61% de los casos correspondieron a infecciones transmitidas con el transplante y 7% a la reactivación de infecciones latentes en el receptor (Acha y Szyfres, 2003).

2.5.2 Patogenia

La penetración del toxoplasma a través de cualquier vía, ya sea oral, intraperitoneal, etc. Ésta produce rápidamente una infección generalizada. Sin embargo, en la mayor parte de las infecciones agudas, la vía de infección es el intestino. (Soulsby, 1987).

Así luego de la ingestión de la forma infectiva, los parásitos son liberados de los quistes tisulares (bradizoítos) o de los ooquistes (esporozoítos) por el proceso digestivo en el tracto gastrointestinal del hospedero (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003), siendo liberados a la luz del intestino, penetrando en el interior de diferentes tipos de célula de la mucosa y submucosa intestinal, formándose trofozoítos, tanto por invasión activa como por fagocitosis (Atias y Thiermann, 1994).

Los organismos se transportan por los ganglios linfáticos y el sistema portal con la posterior invasión de varios órganos y tejidos. En infecciones importantes, la multiplicación de los taquizoítos puede producir áreas de necrosis en órganos vitales tales como miocardio, pulmón, hígado y cerebro; durante esta fase el hospedador puede

desarrollar pirexia y linfadenopatía. Cuando la enfermedad progresa, se forman los bradizoítos, correspondiendo ésta a la fase crónica o de curso asintomática (Urquhart *et al.*, 2001)

Por otro lado, las lesiones que se desarrollan se deben a la destrucción de las células parasitadas por los endozoítos y a la reacción inflamatoria que se produce por los linfocitos, monocitos y macrófagos; estas lesiones se curan por fibrosis y, a nivel del SNC, por gliosis. La sintomatología clínica de estas fases depende de la intensidad de la infección y de la susceptibilidad de los tejidos invadidos. En el hombre, corresponden a esta etapa los casos de toxoplasmosis generalizada, los cuales preferentemente son de tipo congénito, y las primoinfecciones en inmunocomprometidos (Atias y Thiermann, 1994)

La acción de este parásito es originariamente vascular, siendo las células endoteliales los lugares preferentes de localización del parásito. Alrededor del vaso afectado aparecen células epitelioides y macrófagos formando capas concéntricas de inflamación perivascular. La luz del vaso puede quedar ocluida, ocasionando un menor riego sanguíneo en las zonas afectadas, lo que podría explicar la aparición de síntomas nerviosos con convulsiones, temblores o parálisis (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

2.6 Respuesta inmunológica

La respuesta inmunológica del hospedero inmunocompetente contra *Toxoplasma gondii*, en el curso de la infección aguda adquirida es responsable por el enquistamiento del parásito en la musculatura esquelética, cerebro y otros órganos. En este aspecto, los taquizoítos asumen la forma bradizoítica, la cual puede permanecer latente por toda la vida del individuo sin causar daño o muerte. Sin embargo en pacientes inmunosuprimidos, la toxoplasmosis es una infección mucho más severa, siendo considerada entre las enfermedades oportunistas de mayor frecuencia, presentándose en casos de SIDA, enfermedad de Hodgkin y leucemia. En estos pacientes, la toxoplasmosis activa se puede desarrollar por la reactivación de una infección toxoplásmica latente previa o bien por una primoinfección adquirida naturalmente o en

forma iatrogénica (transplantes de órganos o transfusión sanguínea) (Atias y Thiermann, 1994).

La inmunidad humoral representada por la producción de anticuerpos específicos y el principal indicador para el diagnóstico de la toxoplasmosis en la población. Posee gran validez para la detección de los individuos infectados. Sin embargo, no son fuente de información sobre el estado inmune o la resistencia del hospedero (Mayumi, 2004). Se han descrito varias clases de anticuerpos que ejercen acción sobre diversos antígenos; todos ellos se forman a los pocos días de la infección y actúan sobre las formas libres en la sangre y en los líquidos extracelulares. Algunos de estos anticuerpos originan lisis del protozoario, actuando exclusivamente sobre el parásito extracelular, cuya membrana celular perforan con ayuda del complemento, lo cual produce escape del citosol (Frenkel, 1986).

Durante la respuesta humoral, el parásito induce rápidamente niveles detectables de anticuerpos de tipo IgM e IgG en el suero. La evolución más frecuente (> 90% de los casos), sea o no la infección sintomática, ocurre con nivel elevado de IgM que desaparece después de varios meses, siendo el título de IgG ascendente durante dos o tres meses o persistente durante 6 a 12 meses, para después ir disminuyendo lentamente. (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Los macrófagos son activados siguiendo la fagocitosis de parásitos opsonizados por anticuerpos. Sin embargo, cuando los taquizoítos del *Toxoplasma gondii* penetran activamente en los macrófago, evaden los mecanismos de destrucción, debido que inhiben la fusión de los lisosomas con el fagosoma, continuando con su multiplicación intracelular, la célula infectada, al contener un excesivo número de microorganismos intracelulares, se rompe, liberando taquizoítos que invadirán otras células (Tizard, 1995)

La inmunidad mediada por células es la mayor respuesta protectora activada por el parásito durante la infección del hospedero. Por otro lado, las células T son activadas por una gran variedad antigénica pudiendo ser antígenos asociados a membrana o citoplasmáticos. La vía de presentación de antígenos mediada por los linfocitos CD8+ está regulado por las moléculas del CHM, de esta forma, parece controlar el número de

quistes de *Toxoplasma gondii* que sobrevivan. La respuesta de células TCD4⁺ y CD8⁺ es antígeno específica, además estimula la producción de varias linfocinas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10) (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

La IL-2, producida por las células TcoP, Tco0 y Tco1, promueve la activación y multiplicación de los linfocitos Tco, TC y B estimulados, aumentando la actividad de los macrófagos y células asesinas naturales. La IL-4, producida por las células Tco promueven la proliferación de Linfocitos B y T estimulados, además de estimular la producción de IgE (Barriga, 1997).

Por otro lado linfocitos T CD4⁺ sensibilizados liberan IFN- γ , en respuesta a las ribonucleoproteínas del parásito, éste estimula la actividad de los macrófagos, dándoles resistencia y ayudándolos a eliminar las formas intracelulares, debido que permite la fusión de los lisosomas con el fagosoma. Algunos linfocitos T también liberan factores que interfieren directamente con la reproducción de *T.gondii* y los linfocitos T citotóxicos pueden destruir los taquizoítos y células infectadas (Tizard, 1995). Sin embargo, este efecto protector del IFN- γ debe, poseer un mecanismo regulatorio para impedir efectos inmunopatológicos (Mayumi, 2004). A pesar de que los altos niveles de IL-12 y IFN- γ juegan un papel importante en el inicio de una inmunidad mediada por células, fuerte y efectiva contra los taquizoítos de *T.gondii* una respuesta inmune excesiva podría causar una inflamación extensa y daño en los tejidos hospederos. Es por eso que diferentes mecanismos anti inflamatorios como la IL-10, IL-27 y lipoxinas son importantes para prevenir una inflamación exagerada modulando la síntesis (Pepper, 2006).

Además de la IL-12, también la IL-7 y 15 parecen ser importantes durante la infección aguda regulando la producción de IFN- γ y el factor de necrosis tumoral TNF, activadores de la replicación de los taquizoítos durante la fase aguda y crónica (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Adicionalmente, la infección en pacientes con inmunodeficiencia humana es debida por la reducción del número de células TCD4⁺ y la alteración de TCD8⁺. Estos linfocitos son capaces de liberar interleucinas (IL) claves en la protección contra el

patógeno que actuarían además activando a otras células inmunes: microglia, astrocitos, y células citotóxicas, responsables de disminuir la replicación del parásito con lo cual la persistencia de la infección se favorece, presentándose así la encefalitis por toxoplasma, generalmente cuando el recuento de células CD4⁺ ha caído por debajo de 100/ μ l (López y Bolotner, 2003).

En el sistema nervioso central la respuesta sistémica es mínima, sin embargo los linfocitos T y B pueden ingresar para activar células gliales (defensa inmune), astrocitos (presentación de antígenos de toxoplasma) y microglia (función fagocítica más importante). Las citocinas liberadas por los linfocitos, que han ingresado al SNC, además de activar la microglia, pueden inducir la producción de células citotóxicas para disminuir la replicación del parásito. En los pacientes con SIDA, estos mecanismos son insuficientes para controlar el crecimiento de *T.gondii*; así mismo, la liberación de sustancias quimiotácticas y citocinas es insuficiente, persistiendo la invasión parasitaria, además de una reacción inflamatoria local, responsable de muchos de los signos y síntomas de la enfermedad (Dubey, 1995).

2.7 Toxoplasmosis humana

La prevalencia de la toxoplasmosis humana en adultos a nivel mundial presenta variaciones regionales, observándose valores entre 30 y 60% (Amato Neto *et al.*, 1995). El impacto socio económico de la toxoplasmosis en términos de sufrimiento humano y cuidado de niños con retardo mental y ceguera son enormes (Dubey, 2004). Sin embargo, los factores económicos y sociales no tienen relación especial con el parásito, pero si los factores culturales, pues la costumbre de comer carne cruda o poco cocida fue identificado como un factor de riesgo en varios estudios. Por ejemplo en Francia y Noruega el consumo de carne de res y cordero poco cocido respectivamente, fueron el principal factor de riesgo identificado en la adquisición de la toxoplasmosis (Tenter *et al.*, 2000).

2.7.1 Toxoplasmosis adquirida en inmunocompetentes.

La toxoplasmosis adquirida (es decir la forma, no congénita) debe de sospecharse cuando existen linfoadenopatías, linfocitosis, meningoencefalitis, lesiones oculares de origen dudoso y miocarditis. Sin embargo, cientos o miles de casos de toxoplasmosis humana pasan desapercibidos, ya que las manifestaciones apreciables se reducen a una ligera fiebre y a un discreto aumento del tamaño de los ganglios linfáticos (Soulsby, 1987). De esta forma la enfermedad pasa desapercibida, sin administrarse la terapia específica (Amato Neto *et al.*, 1995).

2.7.2 Toxoplasmosis ocular

La toxoplasmosis ocular es una de las principales manifestaciones clínicas de la infección humana por este parásito. La retina del ojo es un sitio primario de infección para este microorganismo, por lo que la manifestación ocular más frecuente de una toxoplasmosis es la corioretinitis o también llamada retinocoroiditis. Presentándose de forma focal, granulomatosa y necrosante, tanto en una primoinfección como en la recidiva de una forma congénita (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). Los síntomas más comunes en los pacientes con toxoplasmosis ocular son visión borrosa, opacidad del campo visual, fotofobia y dolor ocular (Meireles, 2001).

La toxoplasmosis ocular presenta un amplio rango de edad (3-70 años) y un promedio de edad (29.6 ± 0.05 años), siendo las más afectadas las edades comprendidas entre los (20 y 40 años), que está en relación con la ocupación de los pacientes del servicio de Uvea, en su mayoría estudiantes (31.40%) y amas de casa (22.09%) (García, 2002). Debe suponerse que la mayoría de los casos de toxoplasmosis ocular son de la forma congénita, debido a que algunos autores consideran que en la forma adquirida la afección comúnmente es ganglionar (forma linfadenopática febril), y que en la forma congénita se aprecian cuadros severos, que cursan con meningoencefalitis (pacientes inmunocompetentes) y retinitis (Acha y Szyfres, 1992).

2.7.3 Toxoplasmosis congénita

La transmisión placentaria, fue una de las primeras formas conocidas de transmisión del *Toxoplasma gondii*. El feto es infectado por taquizoítos que cruzan la placenta a partir de la circulación materna durante la infección primaria, además quistes titulares en estado latente pueden reiniciar el ciclo de vida del parásito en gestantes inmunosuprimidas y en casos muy raros en gestantes inmunocompetentes (Morussi *et al.*, 2006). La toxoplasmosis adquirida durante la gestación puede constituir una de las formas que presenta especial relevancia por los daños causados en el feto. En general el riesgo de adquirir la toxoplasmosis durante el período de gestación se correlaciona a tres factores: la prevalencia en la comunidad, el número de contactos con la fuente de infección y el número de mujeres susceptibles (no inmunizadas por una infección previa) en la comunidad (Figueiró *et al.*, 2005).

La toxoplasmosis puede pasar desapercibida en el momento del nacimiento, pudiéndose manifestar meses o años después del nacimiento. En esos casos las manifestaciones más frecuentes son la retinocoroiditis y alteraciones neurológicas (Spalding *et al.*, 2003). Así, Sabin, en 1942, describió una tétrada de signos clínicos en la toxoplasmosis congénita, que son: microcefalia, calcificaciones cerebrales, convulsiones y corioretinitis (Melamed *et al.*, 2001). Hoy en día se sabe que la infección de toxoplasmosis en los recién nacidos puede presentarse de diversas formas, variando desde daño cerebral, enfermedad leve a subclínica hasta la muerte después del nacimiento.

2.7.4 Toxoplasmosis adquirida en individuos inmunosuprimidos

En pacientes con inmunosupresión, la toxoplasmosis es una infección mucho más severa, siendo considerada entre las enfermedades oportunistas con mayor frecuencia en casos de SIDA, enfermedad de Hodgkin y leucemia. La toxoplasmosis en la mayoría de pacientes con sida es causada por la reactivación de los quistes titulares causando muchas veces, lesiones en el SNC con fiebre, cefalea y confusión que progresa hasta el coma, signos neurológicos focales y convulsiones (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003); en los transplantes de órganos debido a la inmunosupresión,

también puede ocurrir la infección primaria en los órganos transplantados (Meireles, 2001).

La toxoplasmosis encefálica o cerebral, es una de las infecciones oportunistas más frecuentes en casos de SIDA. Siendo la incidencia directamente proporcional a la prevalencia de anticuerpos antitoxoplasma (Meireles, 2001), por ejemplo en Uruguay el 60% de la población adulta generalmente presentan anticuerpos antitoxoplásmicos, mientras que en USA, se estima que el 26% de los pacientes HIV positivos y portadores de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* pueden desarrollar una toxoplasmosis encefálica debido fundamentalmente a una reactivación de una infección latente (Duran *et al.*, 1997).

2.8 Toxoplasmosis animal

En relación a la toxoplasmosis animal, no siempre este protozoo causa sintomatología evidente o muerte; y muchas veces ocurre de forma inaparente, dependiendo estas situaciones de muchos factores, como la edad del animal, la vía de inoculación, la especie considerada y la virulencia intrínseca de la cepa.

2.8.1 Toxoplasmosis en felinos

Los felinos desempeñan un papel fundamental en la epidemiología de la toxoplasmosis por ser los hospederos definitivos del *Toxoplasma gondii* y los únicos animales en que el parásito realiza la fase sexual del ciclo de vida y eliminan los ooquistes que constituyen una de las formas infectantes del parásito, siendo los felinos esenciales para la diseminación y perpetuación del agente en la naturaleza (Pacheco *et al.*, 2003).

La infección de gatos domésticos por *Toxoplasma gondii* fue descrita por primera vez por Olafson y Monlux en 1942. En un gato que presentaba aumento de los nódulos linfáticos mesentéricos, pequeñas ulceraciones intestinales y múltiples nódulos en los pulmones y se refirieron a la transmisión por consumo de carne mal cocida (Pantoja y Pérez, 2001). Sin embargo, se destaca el aporte realizado en la década de los

sesenta por (Hutchinson *et al.*, 1969) quienes señalan las implicancias del gato en el ciclo biológico de desarrollo del parásito y su relación con el hombre y el resto de los animales (Ovalle *et al.*, 2000).

El tiempo para la eliminación de los ooquistes, en las heces parece estar asociado a la forma infectante de el parásito. Cuando la infección es por la ingestión de ooquistes, los gatos eliminan ooquistes viables en la heces, de 3 a 10 días post infección. Entre tanto, cuando ocurre la ingestión de taquizoítos, la excreción se inicia en un periodo mayor o igual a 15 días, y en el caso de ingestión de bradizoítos, el inicio de la excreción ocurre en un periodo mayor o igual a 18 días (Dubey, 1996).

En gatos puede presentarse una enfermedad entérica grave si justo después del destete ocurre alguna enfermedad concurrente como una infección respiratoria viral. En un gato con hepatitis por toxoplasmosis se demostró una infección enteroepitelial activa. Por otro lado, la infección extraintestinal suele acompañarse de la enfermedad clínica. La reproducción asexual ocurre dentro de las células en la mayor parte de los tejidos del cuerpo y origina la destrucción de la célula infectada y el desarrollo de signos característicos del órgano afectado con mayor gravedad (Kirk, 1997).

En general, en el gato la infección con *Toxoplasma gondii* es inaparente, sin embargo en algunos casos se asocia con signos clínicos como: disminución del apetito, letargia, hipertermia, hepatitis, diarrea, pancreatitis, linfadenopatía y a nivel de SNC incoordinación, convulsiones, alteraciones conductuales, y posturales, retinopatía y anomalías musculares (Minovich *et al.*, 2002).

Los signos neurológicos son variables pero, los más frecuentes son las que denotan afección del sistema nervioso central debida a lesiones multifocales, suelen comenzar con convulsiones y ataxia. También encontramos hipotermia, ceguera total o parcial. Alteraciones en la conducta, estupor, incoordinación, lagrimeo atípico y tortícolis. En el gato no es tan frecuente observar las afecciones neurológicas periféricas como en el perro. La presentación de los signos clínicos depende de la localización de la lesión en el cerebro, cerebelo, tronco cerebral, médula espinal o músculos. Se

describieron variedades de signos neurológicos que incluyen depresión, hiperexcitabilidad, tremor, paresis, parálisis y convulsiones (Nelson y Cuoto, 1995).

La miocarditis es una alteración identificada frecuentemente en la examinación post-mortem. Sin embargo, son muy pocos los casos reportados ante-mortem. En un estudio se describió a un gato con miocarditis, además de enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), y títulos elevados de IgG y IgM para *Toxoplasma gondii*. Una vez establecido el diagnóstico hubo resolución de los cambios miocárdicos cuando se realizó el tratamiento contra toxoplasmosis (Simpson *et al.*, 2005).

El virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) es un lentivirus que induce un síndrome de inmunodepresión en los gatos domésticos similar al provocado en humanos por el virus de la inmunodeficiencia adquirida del hombre (HIV). Tal como sucede durante la infección con el HIV en el hombre, los gatos infectados con FIV tendrían una mayor predisposición a padecer infecciones oportunistas. Se ha determinado experimentalmente que el FIV favorece la proliferación de *Toxoplasma gondii* en gatos infectados crónicamente (Venturini *et al.*, 1997).

En algunas áreas, entre el 25–45% de los gatos son seropositivos; por ejemplo, en Costa Rica se demostró que el 25.3% de los gatos mostraron anticuerpos contra toxoplasma. Por otro lado en los Estados Unidos se comprobó la presencia del parásito en el cerebro de 24.3% y 11% de los gatos examinados en dos estudios diferentes (Acha y Szyfres, 2003). También se cuentan con datos de seroprevalencia en Argentina (La Plata, Buenos Aires y Corrientes capital), obtenidos mediante inmunofluorescencia Indirecta 25%, 19% y 27% respectivamente (Venturini, 1997). Estudios recientes muestran que la frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* fue significativamente mayor en animales alimentados con carne cruda y con libre acceso a la calle. De esta forma, el tipo de alimentación, y el libre acceso a la calle son factores de riesgo igualmente importantes en la ocurrencia de la infección toxoplásmica en gatos (Meireles, 2001).

Los felinos silvestres presentan un papel importante en la transmisión de *Toxoplasma gondii*. A pesar de la alta distribución de este parásito en el mundo, existen

pequeñas islas, en donde la infección por el parásito es virtualmente ausente, debido a la ausencia de felinos en esas localidades. (Wallace *et al.*, 1974) verificaron prevalencias inferiores al 2% en poblaciones de Nueva Guinea en donde la presencia de gatos y felinos silvestres es poco frecuente, en contraposición a las prevalencias de 14 a 34 % en poblaciones donde la presencia de gatos es numerosa. También se observó una prevalencia de 50% en indígenas primitivos de la selva de Colombia que no poseían gatos domésticos, sin embargo se alimentaban de felinos silvestres (Oishi, 2007).

2.8.2 Toxoplasmosis en caninos

Mello en 1910 reportó el primer caso de toxoplasmosis canina, descubierto en Turín (Italia), en un perro aparentemente infectado de moquillo. Se observó anemia pronunciada, anorexia, debilidad extrema, diarrea, exudado sanguinolento y que al examen post-mortem reveló edema diseminado, pequeños nódulos en los pulmones, exudado sero-sanguinolento en el tórax, úlceras intestinales y ligera hipertrofia de hígado, bazo y ganglios mesentéricos (citado por Pantoja y Pérez, 2001).

La toxoplasmosis canina es clínicamente similar a la neosporosis y la tasa de infección por *Toxoplasma gondii* es alta, pero la enfermedad es bastante infrecuente. Las afecciones leves son asintomáticas, pero en las más intensas, los signos clínicos más típicos son trastornos respiratorios (en un 50 % de los casos), digestivos (en un 25%) y nerviosos (en un 25%). Como los trastornos gástricos y nerviosos ocupan el primer plano, la toxoplasmosis se confunde con el moquillo, habiéndose designado como “falso moquillo”; es por eso que en perros menores de un año se impone como diagnóstico diferencial con el moquillo, que cursa con una batería de síntomas muy similar (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

La toxoplasmosis puede causar pérdida en los criaderos de perros: abortos, enfermedades y mortalidad de hasta un 50% de los cachorros o animales jóvenes. Las infecciones latentes son más frecuentes que las clínicamente manifestadas. Sin embargo, en los casos manifestados, aparecen vómitos, inapetencia, diarrea y tumefacciones de los ganglios linfáticos, bazo e hígado. Contracciones epileptiformes, parálisis, espasmos, ataxia, dolor de la región iliaca y bronconeumonía (Borchert, 1964)

Al contrario de lo que ocurre en los gatos, hay pocos casos de toxoplasmosis canina asociados a lesiones oculares (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Sin embargo, en informes de lesiones oculares relacionadas con la toxoplasmosis en perros, se han observado retinitis, uveítis anterior, iridociclitis, hiperplasia del epitelio ciliar y neuritis del nervio óptico (Greene, 2000).

2.8.3 Toxoplasmosis en bovinos

La infección natural por *T. gondii* en bovinos, fue primeramente reportada en Ohio, USA, por (Sanger *et al.*, en 1953). Los mismos autores también relataron la primera infección experimental por el protozoario en bovinos. Aspectos referentes a la toxoplasmosis bovina abordados por (Sanger *et al.*, 1953) fueron también relatados por (Cole *et al.*, 1954), (Koestner y Cole, 1962) y (Piper *et al.*, 1957). Entre tanto los aspectos clínicos descritos por estos autores, no han sido reproducidos experimentalmente (Dubey, 1986).

Se menciona que la infección cursa sin sintomatología, debido que es una especie mucho más resistente capaz de eliminar rápidamente el parásito o de reducir marcadamente su número (Acha y Szyfres, 2003); no obstante, la forma sintomática en evaluaciones experimentales y en brotes naturales los animales presentan síntomas como fiebre, disnea, dorso hundido, depresión, temblores en la cabeza y el cuello, ataxia, irritabilidad y otros síntomas nerviosos. La toxoplasmosis congénita desempeña al parecer un papel insignificante en el aborto bovino. Los terneros afectados congénitamente, muestran fiebre, disnea, tos, estornudos, secreción nasal, temblores en la cabeza y cuello, ocurriendo la muerte en 2 a 6 días después del nacimiento (Blood y Radostits, 1992).

La prevalencia en bovinos en nuestro medio es del 17% (Tejada y Balbín, 1989).

2.8.4 Toxoplasmosis en ovinos

Uno de los primeros trabajos sobre toxoplasmosis ovina es el de (Olafson y Monlux, 1942) (citado por Córdova 2005), en los Estados Unidos de Norteamérica, quienes encontraron toxoplasmosis en animales que presentaban trastornos nerviosos.

La asociación de toxoplasma con problemas de mortalidad perinatal en ovejas fue señalado por (Hartley y Marshall en 1957) en Nueva Zelanda (citado por Córdova 2005), al demostrar la relación entre los abortos y la infección por *Toxoplasma gondii*. Además de acuerdo con (Blewett y Watson en 1984) (citado por Meireles 2001), la toxoplasmosis es la causa primaria de pérdidas de un 10 – 20% de los rebaños con problemas de abortos y mortalidad perinatal. Por otro lado, (Underwood y Rook en 1992) describieron al *Toxoplasma gondii* como principal responsable en rebaños ovinos en Australia, Canadá y el Reino Unido.

Estudios en varios países donde se determinó al *Toxoplasma gondii* como agente causal de mortalidad y abortos en rebaños de ovinos, encontraron prevalencias variables, pudiendo llegar, en determinadas explotaciones hasta el 100%. En el centro norte de los Estados Unidos, se demostró que la toxoplasmosis fue la principal causa asociada a abortos y muerte perinatal, con 17,5% de los casos, seguidos por *Campilobacter* con 9,9% y *Clamidia* con 4.7% (Hayama, 2005). En Sudamérica se han realizado estudios en ovinos de diferentes países entre ellos Uruguay y Brasil demostrando prevalencias de 28.7% y 39 % respectivamente (Freyre *et al.*, 1996; Larson *et al.*, 1980), así también en Chile, se encontró una prevalencia de 28% (Gorman *et al.*, 1999). Estudios de seroprevalencia del toxoplasma gondii, en nuestro país reportan prevalencias en ovinos, de 83.2% y 85% (Contreras y Tejada, 1974; Caldas, 2005).

En cuanto a las pérdidas económicas, algunos trabajos miden las pérdidas provocadas por la toxoplasmosis en ovinos; así en Uruguay, se estimó que de 1.4 a 3.9% de las gestaciones se pierden debido a la enfermedad, significando US\$ 1.4 millones a US\$ 4.68 millones por año (Hayama, 2005).

La primoinfección por *Toxoplasma gondii* en ovejas primíparas confiere en la especie ovina una fuerte inmunidad protectora que impide la infección del feto en futuras gestaciones. La respuesta inmunitaria evita, asimismo, la repetición del aborto toxoplásmico en las ovejas que ya lo han padecido, por lo que pueden mantenerse como reproductoras (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En ovinos la severidad de la infección congénita depende del momento que ocurra la fase activa o aguda de la infección en el lapso de la gestación: Cuando la infección ocurre durante los primeros 50 días de gestación origina la muerte del embrión (Rojas, 1990). Debido al escaso peso del embrión en este periodo, la muerte va seguida de una completa reabsorción embrionaria que puede confundirse con infertilidad de las hembras (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Infección entre los 50 y 60 días de gestación provoca también la muerte del feto, en este caso debida a la propia parasitemia, frente a la que es incapaz de responder inmunológicamente. Aunque la muerte en esta fase puede ir seguida de expulsión fetal, con mayor frecuencia se produce la retención del feto con momificación y por último, la infección es raramente fatal si ocurriese dentro del último tercio (Rojas, 1990).

La infección suele cursar en forma leve en individuos adultos y sanos, tras un período de multiplicación activa, el parásito puede sobrevivir de por vida en forma latente, fundamentalmente en cerebro y musculatura estriada (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Entre las lesiones neuropatológicas, se observa que la principal es una necrosis focal, en las formas agudas, mientras que en las formas crónicas son más evidentes los nódulos gliares, con quistes de toxoplasmas asociados a estos. Las lesiones de necrosis toxoplásmicas en los cotiledones, tienen el aspecto de puntos blancos del tamaño de una cabeza de alfiler o menores, y son patognomónicos, por lo que su valor diagnóstico es muy grande. A veces no son aparentes en la superficie del cotiledón, en este caso se sumerge el cotiledón en un balde con agua, por lo que éste se esponja y muestra las lesiones localizadas interiormente (Freyre, 2005).

2.8.5 Toxoplasmosis en caprinos

Munday y Mason (1979) (citados por Córdova 2005), fueron los primeros en descubrir la Toxoplasmosis como causa importante de pérdidas reproductivas en caprinos y a pesar de ser menos documentada en esta especie, aparentemente los daños son mayores.

La prevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en Estados Unidos va del 21-60% en caprinos lecheros. Otros trabajos en Brasil (Minas Gerais y Bahía) registraron 36.8% y 28.93% de caprinos positivos respectivamente (Gondim *et al.*, 1999). Un estudio de prevalencia en nuestro país en caprinos reportó prevalencia del 57,9% (Vidal, 1990).

A través de infecciones experimentales, se ha demostrado la eliminación a través de la leche, saliva, orina y semen. Los signos clínicos más frecuentes observados son fiebre (>40°C), hiporexia, diarrea, disnea y apatía entre el quinto y décimo día después de la inoculación de ooquistes, por vía oral. La muerte de los animales está asociada a lesiones fibro-necróticas, congestión y edema en tejido intestinal, pulmonar, y necrosis focal de linfonódulos mesentéricos, encefalitis, hepatitis y compromiso renal, siendo la severidad del cuadro directamente proporcional a la dosis inoculada (Meireles, 2001).

En el ganado caprino la forma adquirida es más patógena que en la oveja. La multiplicación del parásito durante la fase septicémica puede desencadenar encefalitis, nefritis, hepatitis, abomasitis necrosante, enteritis y cistitis en cabras adultas, aunque en la mayoría de los casos sólo ocasiona trastornos en la reproducción, de forma similar a la que ocurre en la especie ovina. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en la oveja, existen evidencias que indican que en el ganado caprino el aborto por toxoplasma puede repetirse en gestaciones sucesivas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

2.8.6 Toxoplasmosis en camélidos sudamericanos

La alta prevalencia de toxoplasmosis hallada en CSA, indica la gran contaminación de los pastizales con el toxoplasma. Aun cuando no es frecuente el contacto estrecho entre gatos y CSA, la infección puede ocurrir cuando los camélidos

son concentrados en lugares contaminados por heces de gatos para operaciones tales como esquila, dosificación, etc. Los gatos y felinos silvestres eliminan millones de ooquistes después de comer carne o vísceras infectadas de CSA, aves, roedores silvestres, etc. (Leguía, 1999)

Los estudios realizados en diversas zonas y especies, reportan prevalencias en alpacas de Junín del 21% (Poma, 2003). En alpacas de Puno del 50%, 24%, 53% y 47.5% (Leguía *et al.*, 1987; Góngora, 1992; Gómez *et al.*, 2003; Marcas, 2004), en alpacas de Cuzco del 35.7% (Ramírez, 2003) y en alpacas de Chile, una prevalencia de 16.3% (Gorman *et al.*, 1999). Así mismo, estudios realizados en llamas reportan prevalencias de 32% y 10.2% (Gómez *et al.*, 2003; Saravia *et al.*, 2004) y en vicuñas de 14.9% (Pastor *et al.*, 2003).

2.8.7 Toxoplasmosis en porcinos

El cerdo ocupa un papel destacado desde el punto de vista sanitario ya que contribuye, junto con la oveja, la principal fuente de transmisión de la toxoplasmosis al hombre (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En el ganado porcino, la toxoplasmosis fue señalada por primera vez por (Farrel *et al.* en 1952), mientras que en Brasil fue diagnosticada por primer vez por (Silva en 1959) (citado por Soulsby, 1987). Desde entonces, se han descrito casos de toxoplasmosis porcina y los datos de prevalencia varían según la localidad y técnicas diagnósticas utilizadas por ejemplo en Argentina se reporta un 78% de animales positivos mediante la prueba de Hemaglutinación Indirecta, y 94.4 % de cerdos positivos mediante la prueba de inmunofluorescencia. Por otro lado en Brasil en un estudio realizado en Sao Paulo, se obtuvo mediante la prueba de ELISA 9.57 % de reactivos a *Toxoplasma* no observándose diferencia significativa entre ambos sexos (Suárez *et al.*, 1999). Un estudio realizado en la ciudad de Lima-Perú, sobre cerdos provenientes de crianza intensiva y extensiva mediante la prueba de hemaglutinación indirecta, se determinó un 25,16% de reactivos en animales procedentes de crianza tecnificada y 14.84% en aquellos procedentes de las granjas no tecnificadas. Esta diferencia puede deberse a la población de gatos observada en las instalaciones de

crianza tecnificada, lo que puede alimentar la disponibilidad de ooquistes de toxoplasma en dichos lugares (Bustamante, 1999).

El diagnóstico de *Toxoplasma gondii* en los animales no es simple, debido a que la enfermedad es mayormente subclínica y por ello los monitoreos serológicos a nivel del matadero son de importancia para estimar la frecuencia de infección toxoplásmica en cerdos (Suárez et al., 1999). Sin embargo, la forma aguda es más frecuentemente y observada en cerdos jóvenes y se caracteriza por signos respiratorios como tos y disnea, que muchas veces están asociados a problemas de neumonía subclínica en las pjaras. La primoinfección en hembras gestantes puede originar abortos, partos prematuros o nacimiento de lechones débiles, al igual que ocurre en la especie ovina. De presentarse nacimientos los lechones se pueden presentar problemas pulmonares, nerviosos y en algunos casos la muerte en pocas horas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

2.8.8 Toxoplasmosis en aves

Aves y roedores son importantes hospederos intermediarios de *Toxoplasma gondii* porque sirven como fuente de infección para gatos que excretan ooquistes en sus heces después de ingerir los quistes que están en tejidos de animales infectados. Aves como las gallinas adquieren fácilmente el parásito *Toxoplasma gondii* debido a sus hábitos de alimentación, ya que pican la comida del suelo contaminado con ooquistes. Este comportamiento hace que se produzcan quistes en los tejidos de estos hospederos intermediarios, los cuales van a perpetuar la infección del parásito constituyendo un recurso de infección para los animales y el hombre. En un estudio mediante infecciones experimentales en gallinas se ha encontrado que únicamente las gallinas jóvenes son las susceptibles a sufrir enfermedad ya que luego de inoculadas, las aves presentaron palidez y flacidez de cresta, pérdida de peso y diarrea, encontrándose el parásito en ovarios y en huevos de algunas gallinas (Ruíz *et al.*, 2005).

La toxoplasmosis de las aves puede ser frecuente pero raramente es sintomática. En Costa Rica se ha aislado *Toxoplasma gondii* de 54% de 50 pollos, sin que se advirtieran anticuerpos en las aves (Acha y Szyfres, 2003); mientras que en Perú se encontró una prevalencia de 26% por la prueba de aglutinación modificada en 50 aves

de crianza a traspatio (Dubey *et al.*, 2004). Por otro lado, un estudio en Egipto demostró el predominio de anticuerpos entre pavos, pollos y patos encontrado era del 59.5%, 47.2% y 50% respectivamente (Massry *et al.*, 2000).

La parasitosis es más frecuente en las aves de vida libre o de crianza a traspatio que en las sometidas a controles higiénicos, pues aquellas tienen más posibilidades de acceder a los ooquistes esporulados eliminados por los felinos, en cuya difusión pueden participar mecánicamente moscas, cucarachas o lombrices. La infección por ingestión de quistes musculares de toxoplasma es posible en aves de rapiña y en las domésticas que tengan acceso a despojos contaminados (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

2.9 Diagnóstico

2.9.1 Diagnóstico clínico

El diagnóstico clínico de la toxoplasmosis no es fácil de realizar porque en la mayoría de especies, la infección cursa de manera subclínica o asemejarse a otras enfermedades (Mononucleosis). La sintomatología en caso de presentarse, consiste en fiebre, taquipnea, anorexia y ocasionalmente diarrea (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

Además, como diagnóstico orientativo y desde el punto de vista lesional la multiplicación del parásito en la placenta originará focos de necrosis, los cuales darán la apariencia de pequeños puntos blanquecinos de 1 a 2 mm de diámetro. (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

De un modo general el diagnóstico clínico debe de ser confirmado por un diagnóstico serológico y de ser posible por la demostración y aislamiento del parásito.

2.9.2 Diagnóstico laboratorial

2.9.2.1 Visualización

Es posible la observación y obtención del parásito durante la fase aguda en preparados frescos: exudados, leche, sangre, humor acuoso, líquido ventricular o

cefalorraquídeo, etc. En estos casos, la forma encontrada es el taquizoíto y es evidenciado después de la centrifugación y coloración de dichos materiales (Meireles, 2001).

2.9.2.2 Histopatología

En la práctica se recurre a la biopsia de los ganglios, piel, pulmón, hígado, bazo, músculo, cotiledones placentarios y los tejidos cerebrales del feto; para su posterior fijación y coloración por los métodos de Leishman y Giemsa (Amato Neto, 1971). La presencia de múltiples quistes tisulares en áreas de inflamación y en ausencia de otros patógenos puede ser usada como evidencia presuntiva de una infección. En cuanto a la descripción microscópica se observará una meningoencefalitis difusa con múltiples áreas de necrosis en la materia gris, la neumonitis es predominantemente intersticial y se caracteriza por el infiltrado de macrófagos, linfocitos, y ocasionalmente polimorfo nucleares y la miositis con un infiltrado similar; puede ser en cualquier músculo, siendo más prominente en el corazón (Green *et al.*, 2004).

2.9.2.3 Aislamiento e Inmunohistoquímica

Se puede también realizar la inoculación intraperitoneal o intracerebral de las muestras obtenidas en la centrifugación o en la biopsia en ratones, una vez establecida la fase crónica, la biopsia de los tejidos evidenciará la presencia de quistes. Tanto en los preparados histológicos como en las improntas la visualización del *Toxoplasma gondii* puede ser facilitada por métodos inmunohistoquímicos, mediante el empleo de anticuerpos específicos marcados con enzimas la tinción histoquímica con la técnica de la peroxidasa-inmunoperoxidasa permite la detección del parásito en los tejidos con una gran sensibilidad y su visualización solo requiere de un microscopio ordinario (Acha y Szyfres, 2003).

2.9.2.4 Polimerase Chain Reaction (PCR)

Fue usado a principio desde 1990 para la detección de toxoplasmosis animal. Igualmente se empleó en ovinos (Wheeler *et al.*, 1990; Turner *et al.*, 1991; Wastling *et al.*, 1993; Owen *et al.*, 1998), equinos (Turner y Savva, 1990), felinos (Lappin *et al.*, 1996; Stiles *et al.*, 1996; Burney *et al.*, 1999; Feng y Milhausen, 1999) y caninos (Stiles *et al.*, 1996). Como en humanos, se ha probado en diferentes tejidos y fluidos (placenta,

sangre, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, etc) y además PCR ha sido reportado ser más sensible que la inoculación en ratones (Bastein, 2002). Esta técnica se fundamenta en la amplificación específica de determinados genes o fragmentos de genes; en concreto, el gen B1 o parte del gen P30. La técnica es muy sensible y los experimentos muestran que el método de PCR puede detectar 0,1 pg del DNA del *Toxoplasma gondii*. La prueba de reacción en cadena de la polimerasa usando DNAs de gatos, perros, cerdos, vacunos, humanos, *Sarcocystis cruzi*, *Eimeria ahsata*, *Eimeria vermiformes*, y *Escherichia coli* indican una reacción no cruzada con ácidos nucleicos de los hospederos, relacionado a la coccidia, y a la bacteria (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

2.9.2.5 Intradermoreacción con toxoplasmina

Es una prueba cualitativa que sólo permite detectar infecciones antiguas y es de utilidad para investigaciones epidemiológicas. Al inyectar intradérmicamente pequeñas cantidades de antígeno, se produce una reacción de hipersensibilidad retardada tipo IV, caracterizada por induración, edema e infiltración monocítica en la zona en 24 a 72 horas; y la positividad aparece meses después de la infección (Acha y Szyfres, 2003).

2.9.2.6 Examen fecal

Es realizado en el hospedero definitivo. Su diagnóstico se basa en la observación de ooquiste en la materia fecal. Debido a que estos pacientes suelen eliminar lo ooquistes sólo durante una o dos semanas después de su primera exposición, raras veces se encuentran ooquistes en el examen coproparasitológico de rutina (Leguía, 1996). Los ooquistes de *Toxoplasma gondii* en las heces de los felinos no se diferencian morfológicamente de los ooquistes de *Hammondia hammondi* y *Besnoitia darlingi*, que también se desarrollan en los gatos. Los ooquistes de estos coccidios sólo pueden diferenciarse por medio de esporulación e inoculación subsecuente en animales. Si se encuentran oocistos de 10 µm de tamaño hay que considerarse que son de *Toxoplasma gondii*, en tanto no se demuestre lo contrario. Debido a su tamaño, los oocistos de *Toxoplasma gondii* se demuestran mejor mediante centrifugación utilizando la solución de azúcar de Sheather (500 g de azúcar, 300 ml de agua y 6.5 g de cristales de fenol fundidos). Los oocistos tienen alrededor de la cuarta parte del tamaño de *Isospora felis* y un octavo del tamaño de *Toxocara cati* (Green, 2000).

2.9.3 Diagnóstico inmunológico

2.9.3.1 Sabin-Feldman (RSF)

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de la toxoplasmosis se iniciaron en el año 1948, con la propuesta de Sabin y Feldman de la prueba que lleva sus apellidos, también denominada “prueba de colorante” o “Dye test” y que constituye hasta la actualidad prueba de referencia para el diagnóstico de esta zoonosis (Goldman, 1956).

La reacción de Sabin y Feldman, que mide preferentemente anticuerpos de tipo IgG, es una prueba serológica altamente específica y sensible (Borbolla *et al.*, 2005). La técnica de RSF tiene una sensibilidad de 99% y una especificidad de 100% (Ovalle *et al.*, 2000). Es una reacción de lisis y se fundamenta en el hecho de que los toxoplasmas vivos no se colorean con una solución fuertemente alcalina de azul de metileno (ph:11), al ser sometidos previamente a la acción de los anticuerpos del suero positivo; debido que éstos y el complemento ocasionan lisis y destrucción de la membrana citoplasmática; por otra parte en la reacción negativa, los taquizoítos vivos se tiñen intensamente de azul con el colorante vital (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Para tal efecto se utiliza toxoplasma virulento como antígeno el cual es expuesto a diluciones de suero y un factor accesorio obtenido de suero humano libre de toxoplasma. El inconveniente de la técnica es el costo del suero humano y la exigencia de trabajar con parásitos vivos (Ovalle *et al.*, 2000).

2.9.3.2 Fijación de complemento

Esta prueba fue aplicada por primera vez por (Warren y Sabin en el año 1952). Es una prueba difícil, no está estandarizada, razones por la cual, cada vez se utiliza menos. Se basa en la determinación de la cantidad de complemento consumido cuando se produce la unión de Antígeno-Anticuerpo (citado por Acha y Szyfres, 2003).

El valor diagnóstico depende de la calidad del antígeno utilizado. Para el uso clínico, se recomienda emplear un antígeno poco sensible, que sólo de resultados positivos durante las etapas activas de la infección. Así aplicado, este método no detecta la totalidad de

las infecciones y, por consiguiente, completa, pero no sustituye pruebas como hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia indirecta, reacción Sabin Feldman o reacción de aglutinación directa (Atías y Thiermann, 1994).

Un aumento importante de los títulos de la reacción de fijación de complemento indica infección reciente. Los títulos aunque más bajos, siguen generalmente los mismos patrones que los obtenidos mediante el “dye-test”. Los anticuerpos aparecen normalmente más tarde y desaparece antes que los que se detectan con otros métodos, y, en muchos casos, los anticuerpos desaparecen después de los signos clínicos. (Soulsby, 1987). Un resultado positivo, obtenido en forma aislada, no permite diagnosticar infecciones agudas. Así mismo, un resultado negativo no excluye el diagnóstico de toxoplasmosis (Atías y Thiermann, 1994).

2.9.3.3 Hemaglutinación indirecta

La reacción de hemaglutinación indirecta fue desarrollada por (Borden, 1951), siendo utilizada por primera vez para el diagnóstico de toxoplasmosis por (Jacobs y Lundé en 1957) (citado por Velasco *et al.*, 1992).

Esta técnica detecta IgG y emplea como soporte del antígeno, glóbulos rojos tratados con glutaraldehído y se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito (Wiener Lab, 2000). Su principal limitación es no detectar infecciones recientes, pues se alcanzan títulos diagnósticos a los 30 días, mientras que Sabin y Feldman o Dye Test e Inmunofluorescencia Indirecta pueden detectar IgG e IgM a los 10-14 días (Rojas, 1990).

Tanto la presencia de anticuerpos heterófilos como la aparición de IgM, características del periodo agudo de la parasitosis, se investigan empleando tratamiento con 2-mercaptoetanol (2-ME). En condiciones de infección aguda, el patrón de aglutinación cae varios títulos, denotando la presencia de estos anticuerpos de fase

aguda y proporcionando la diferenciación entre infecciones agudas y crónicas (Meireles, 2001).

2.9.3.4 Inmunofluorescencia indirecta

Para el diagnóstico de la toxoplasmosis, esta prueba fue introducida por (Goldman el año 1956). Es una técnica simple y rápida que proporciona resultados equivalentes a la reacción de Sabin-Feldman en todas las fases de la infección (Atías y Thiermann, 1994). La técnica de inmunofluorescencia tiene una alta sensibilidad (99%) y especificidad (100%) y utiliza antígenos muertos estables; es por eso que viene reemplazando a la técnica de Sabin-Feldman que a pesar de obtener resultados equivalente a IFI, ésta requiere manipulación de parásitos vivos y crianza de ratones (Acha y Szyfres, 2003; Ovalle, 2000).

En esta prueba, se utiliza como antígeno los taquizoítos del *Toxoplasma gondii* previamente formalizados y fijados en portaobjetos de inmunofluorescencia que posteriormente se enfrentan a diluciones crecientes del suero problema. La prueba se basa en que ciertas sustancias denominadas fluorocromos (Isotiocianato de Fluoresceína), se conjugan con los anticuerpos, y al ser expuestos a una luz ultravioleta, emiten un haz de luz de mayor longitud de onda, que se visualiza con un microscopio de fluorescencia, permitiendo detectar la presencia de anticuerpos específicos en una muestra problema (Venturini *et al.*, 2001).

2.9.3.5 Inmunoensayo enzimático o ELISA

La prueba de ELISA es un método de gran sensibilidad y especificidad, además puede diferenciar IgM, IgG, IgA e IgE. El principio de la prueba de Elisa es semejante al de la prueba de inmunofluorescencia indirecta. No obstante, en lugar de sustancias fluorescentes se utiliza una enzima unida de manera estable a una antiglobulina de la especie investigada. Las técnicas inmunoenzimáticas permiten la detección de anticuerpos en un medio complejo y normalmente se utilizan tres principios técnicos para la detección de estos anticuerpos: la inmunocompetencia, el método indirecto y la inmunocaptura (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Las técnicas de ELISA son de gran ayuda utilizables para la demostración de Ac circulantes IgG e IgM en caso de toxoplasmosis congénita. Al respecto se han empleado técnicas de ELISA-Inversa y la DS-ELISA-IgM (o técnica de doble sándwich), los cuales no proporcionan falsos positivos por “efecto del factor reumatoideo”, ni falsos negativos debido a un exceso de IgG materna, lo que permite detectar alrededor del 75% de las infecciones congénitas por *Toxoplasma* (Atías y Thiermann, 1994).

Los títulos obtenidos con la prueba de ELISA para anticuerpos específicos IgG. Correlacionan bien con los obtenidos por Dye Test o por la reacción de inmunofluorescencia indirecta; mientras que la técnica de doble sándwich es más sensible que la reacción de inmunofluorescencia indirecta (Freij *et al.*, 1991).

Los anticuerpos IgA contra la superficie proteica P30 del toxoplasma puede ser detectado por la técnica de doble sándwich, puede probar ser más sensible que la IgM-ELISA para el diagnóstico de la toxoplasmosis aguda y congénita; se estima que la prueba de Elisa para anticuerpos específicos IgM tiene una sensibilidad de 97% y una especificidad de 100% (Acha y Szyfres, 2003).

2.9.3.6 Método Aglutinación directa (MAD)

Esta técnica fue utilizada por primera vez por (Fulton y Turk en 1959). La aglutinación directa con antígenos de membrana, es una técnica simple, barata y que permite verificar infecciones agudas; habiendo sido introducida para verificar infecciones en pacientes con SIDA.

Detecta principalmente anticuerpos IgM e IgG, dirigidos contra antígenos de superficie, por lo que permite la detección temprana; sin embargo se recomienda su empleo como prueba tamiz en combinación con alguna otra técnica. Tiene buena sensibilidad y correlación con el Dye test y ELISA. Al igual que IFI, emplea taquizoítos enteros como antígenos, tratados con formol y se basa en la interacción del antígeno anticuerpo (Venturini *et al.*, 2001).

A pesar de ser simple, no cuenta con una aceptación universal, puesto que el valor de los resultados depende de la calidad de los antígenos incluidos en los “kits”. Algunos antígenos no presentan una sensibilidad adecuada, y además, los resultados carecen de especificidad. El valor de esta prueba como método de diagnóstico aumenta con el empleo de antígenos más sofisticados (Atías y Thiermann, 1994).

3.0 Prevención y control

Teniendo en cuenta que la toxoplasmosis es una de las zoonosis de mayor consideración en la salud pública, las medidas de prevención se deben enfatizar principalmente al humano, especialmente las embarazadas y personas inmunodeficientes; y a través de tales medidas también proteger a los animales:

a) En el hospedero definitivo:

- No administrar carnes crudas o mal cocidas ni a perros ni a gatos.
- La castración y buena alimentación de los gatos, les promueve hábitos sedentarios y tiene una menor tendencia a la caza, medio por el cual puedan ellos infectarse (Rojas, 2003).
- Limpiar diariamente los cajones de aseo de los gatos, puesto que los oocistos tardan 24 horas en hacerse infectivos tras su exposición al aire (Merck, 2000).
- La monensina, un anticoccidiano utilizado en alimentos para aves y ganado, es eficaz para suprimir la eliminación de ooquistes cuando se añade al alimento seco para gatos, en el transcurso de uno o dos días después de la inoculación. No evita que los felinos infectados desarrollen inmunidad contra la eliminación de ooquistes en una exposición subsecuente a toxoplasma (Greene, 2000)

b) En el hospedero intermediario:

En el ganado:

- Los ganaderos deben conocer el riesgo que conlleva la presencia de gatos en las explotaciones, controlar su entrada en las áreas de almacenamiento

del alimento para los animales, así mismo eliminar cucarachas y moscas que pueden cumplir la función de vectores.

- Es conveniente incinerar las placentas y los fetos abortados para minimizar la propagación, teniendo la precaución de proteger las manos con guantes al manipular dichos tejidos
- Controlar la proliferación de roedores, mantener los piensos y forrajes recubiertos y evitar el suministro de desperdicios crudos (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).
- Rotación de las canchas de parición, tratando de exponer a las hembras jóvenes no empadradas, a pastizales infectados a fin de que adquieran inmunidad (Leguía, 1999).

En el humano:

- Educando a las personas, particularmente a los mujeres embarazadas y personas inmunodeficientes. En el primer caso, por la posibilidad de la infección congénita; en el segundo, por la posibilidad de casos graves (Acha y Szyfres, 2003). Deben ser informadas de las diferentes fuentes de infección por *Toxoplasma*, así como de las precauciones que deben tomar si tienen gatos.
- Antes de la gestación es conveniente que la mujer se realice la prueba de diagnóstico, y durante la gestación debe extremar las medidas preventivas.
- Como medida preventiva secundaria el diagnóstico de la embarazada con infección aguda y su ulterior tratamiento parece ser un efectivo medio de control de la infección del recién nacido (Acha y Szyfres, 2003).
- La eficiencia del tratamiento está relacionada a la toxicidad de la droga, por lo que se precisa de un diagnóstico adecuado, evitando así, fetos afectados o la interrupción injustificada de la gestación
- Niños de madres con alteración de títulos de anticuerpos durante la gestación, deben de ser controlados en su desarrollo psicomotriz (Rojas, 1990).
- Son muy importantes las orientaciones higiénico-dietéticas sobre como evitar la toxoplasmosis, principalmente en el cuidado de la tenencia de gatos, en la cocción adecuada de las carnes, en la ingestión de derivados de lácteos y leche pasteurizada, en el tratamiento del agua y el lavado de frutas y verduras.

- Se debe educar a la población para realizar ciertas labores con las medidas de protección adecuadas, por ejemplo, usar guantes para realizar labores de jardinería, donde se requiera mover tierra que pueda estar contaminada con heces de gatos; a las amas de casa se les aconseja lavarse las manos luego de manipular carne cruda (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

c) En el medio ambiente

- Destruir los posibles ooquistes de las verduras contaminadas con heces de gatos, mediante lavados con ácido acético diluido.
- Controlar insectos como las cucarachas, moscas, etc. Porque pueden diseminar el parásito.
- El excremento del gato que se encuentra en el jardín, puede ser arrastrado por el agua cuando llueve. Además el tratamiento que se le da a los drenajes puede no matar los ooquistes que se encuentran en el excremento de los gatos. Por otro lado los ooquistes pueden sobrevivir hasta 18 meses durante condiciones medioambientales desfavorables y son resistentes a la mayor parte de desinfectantes. El tirar el excremento del gato o desecharlo por la taza del baño o tirarlo afuera de su casa, puede contribuir a que los parásitos del *Toxoplasma* puedan llegar hasta nuestros ríos y océanos. Es por eso que se debe de poner el excremento del gato en una bolsa plástica y colocarla en la basura. Evitando además que sean diseminados por medio de las moscas, el agua, las lombrices y los escarabajos.
- Limpieza de la caja de arena del animal por una persona no embarazada y desinfección de la bandeja sanitaria con una solución de lejía (una parte de lejía en 4 partes de agua) (Rojas, 2003).

3.1 Tratamiento

El tratamiento consigue erradicar las formas rápidas de proliferación. Sin embargo no existe ninguna droga que consiga eliminar los quistes tisulares latentes en humanos y animales, es por eso que la infección por *Toxoplasma gondii* no puede ser erradicada por completo (Merck, 2000).

La terapia para la toxoplasmosis está basado en los inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos, como la sulfa y pirimetamina esta combinación provoca el bloqueo de la síntesis y utilización de los ácidos p-aminobenzoico, fólico y folínico (Atías y Thiermann, 1994). A pesar de que la sulfadiazina, junto con la pirimetamina, tienen una combinación sinérgica que puede ser muy eficaz, en la gestación por el efecto teratogénico de las diaminopirimidinas está contraindicada, y además son mal toleradas por los caninos (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Una vez que se ha comprobado la infección por *Toxoplasma gondii*, por medio de PCR en el líquido amniótico o por aislamiento del parásito en cultivo o inoculación al ratón o por diagnóstico serológico en sangre del cordón fetal, debe instaurarse el tratamiento pleno, que logra modificar el curso de la enfermedad y disminuir las secuelas fetales: el tratamiento contra la Toxoplasmosis es a base de ciclos de espiramicina (ESP) por 3 millones de UI cada 8 horas vía oral (VO) por 3 semanas, luego suspender y administrar una vez a la semana por dos semanas sulfadoxina 500 mg más pirimetamina 25 mg VO tres veces por día y 10 gr. de levadura de pan o cerveza (como ácido folínico) VO el mismo día. Al finalizar este ciclo de dos semanas deberá realizarse un cuadro hemático (por el riesgo de anemia megaloblástica asociado a la pirimetamina pero prevenible con la administración conjunta de ácido folínico) y luego reiniciar el ciclo con ESP y posteriormente el de pirimetamina-sulfadoxina-levadura, así hasta el final del embarazo y siempre desde la semana 20 (Olaya y Flores, 2003).

La clindamicina es el medicamento de elección para el tratamiento de la toxoplasmosis aguda en perros y gatos, dado que atraviesa la barrera hematoencefálica, facilitando el tratamiento de la encefalitis (Rojas, 2003). Debido que la absorción de esta droga a nivel intestinal es efectiva, tanto la dosis oral y parenteral son similares. La dosis de clindamicina varía a razón de 10 – 20 mg/kg/día por un periodo de 3 – 6 semanas (Greene, 2000). Los casos de afección ocular se tratan también con carbohidrato de clindamicina combinada con corticosteroides tópicos o parenterales. La retinocoroiditis suele responder con rapidez. Sin embargo, la uveítis anterior empeora al inicio después de administrar carbohidrato de clindamicina. Se piensa que se debe a un aumento de la liberación de antígeno de quistes tisulares, que incrementa la enfermedad de mediación inmunitaria (Kirk, 1997).

Hasta hoy, no existe ninguna vacuna comercial contra la toxoplasmosis humana que prevenga la infección congénita, o la formación y reactivación de los quistes tisulares (Gottstein, 1995). La única vacuna registrada es Toxovax, para el uso en ovejas que utiliza taquizoítos viables de cepa S48. El interés de esta cepa es su incapacidad de producir bradizoítos, por tanto, de persistir en el hospedador, confiriéndole, a pesar de ello, una fuerte inmunidad protectora de tipo esterilizante (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). En un ensayo, utilizaron ovejas inmunizadas con esta vacuna y posteriormente desafiadas con ooquistes, los resultados mostraron una eficiencia parcial de 80% de los fetos libres de infección en las ovejas vacunadas (Meireles, 2001).

A los pacientes infectados por el VIH y seropositivos a *Toxoplasma* se les debe administrar profilaxis frente a la encefalitis por *Toxoplasma*. El fármaco de elección es recomendado es la trimetoprim sulfametoxazol que en caso de intolerancia, la alternativa recomendada es la dapsona- pirimetamina, que también es eficaz frente a la Neumonía causada por *Pneumocystis carinii* infección grave más común en las personas con enfermedad avanzada por VIH (USPHS e IDSA, 2001).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación geográfica y procedencia de muestras

Muestras de sangre de gatos domésticos, obtenidos de diferentes consultorios veterinarios ubicados diferentes distritos de Lima Metropolitana, fueron obtenidas durante los meses de mayo del 2006 hasta junio del 2007.

Las muestras de sangre luego de obtenidas fueron centrifugadas y almacenadas hasta su procesamiento en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria – UNMSM.

4.2 Diseño estadístico

4.2.1 Tamaño muestral

Debido a que no existió estudios previos sobre la frecuencia de toxoplasmosis felina en Lima, se tomó una muestrea previa de 30 sueros de gatos, para así estimar el tamaño de muestra. Se obtuvo una prevalencia previa del 13%.

Con esta información y mediante la aproximación normal a la binomial, se calculó el tamaño de muestra para estimar la prevalencia (Daniel, 1996) así:

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{E^2}$$

donde:

n: tamaño muestra

Z: nivel de confianza (valor tabular 1,96) con 95% de confianza

p: 0,133

q: $1 - p = 0,867$

E: precisión (0,05)

$$n = \frac{(0.95)^2 (0.13) (0.87)}{(0.05)^2}$$

$$n=178$$

Agrupación de animales

Los animales del presente estudio fueron categorizados según (Hand *et al.*, 2000) en jóvenes (menores de 1 año), adultos (entre 1 y 7 años) y gatos de edad avanzada (mayores de 7 años). Dichos autores toman en cuenta la prevalencia creciente de enfermedades relacionadas con la edad y el inicio de cambios conductuales, físicos y metabólicos siendo estos cambios más notorios en animales de edad avanzada asociados con el envejecimiento.

4.2.2 Recolección de las muestras

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante la punción directa de la vena yugular de los gatos, usando vacutainers y agujas de 23x1 pulg. Las muestras fueron centrifugadas y los sueros resultantes se conservaron en congelación a -20 °C hasta su procesamiento.

4.2.3 Procesamiento de las muestras

4.2.3.1 Detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*

Se realizó mediante las siguientes técnicas:

4.2.3.1.1 Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos (Ig G) contra *Toxoplasma gondii*:

1. Las policubetas fueron pasadas con un paño húmedo por la base para eliminar la carga electrostática.

2. Se colocó 25 µl de diluyente de sueros HAI en todos los pocillos de la policubeta.
3. Enseguida se colocó 25 µl de sueros controles y de las muestras a ensayar en los pocillos de la fila 1. donde se utilizaron tantas columnas horizontales como sueros se procesaron.
4. Se realizó diluciones a partir de la fila 1 (dilución 1/2) pasando los microdilutores hacia la fila 2 (dilución 1/4) y así sucesivamente hasta la fila 6 (dilución 1/64).
5. Luego se colocó en las filas 1 y 2 (diluciones 1/2 y 1/4) 25 µl de GR no sensibilizado para el control de la heterofilia.
6. En el resto de los pocillos, se agregó 25 µl del antígeno HAI.
7. Se agitó la policubeta durante 30 segundos.
8. Luego se dejó en reposo al resguardo de vibraciones durante 90 minutos.
9. Se realizó la lectura a partir de los noventa minutos.
10. Lectura:
 - No reactivo: Presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares
 - Reactivo: Formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos

Se tomó la lectura como positivos valores \geq a 1/16 (punto de corte) de acuerdo al kit comercial Toxotest-HAI.

La prueba de hemaglutinación se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti -T.gondii de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito (Wiener lab, 2000).

4.2.3.1.2 Prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), para la detección de anticuerpos (Ig G) contra Toxoplasma gondii:

1. Para el inicio a la prueba, las muestras y los reactivos debieron estar a medio ambiente.

2. Se colocó en una policubeta 187.5 μ l de buffer y 12.5 μ l de cada suero problema (dilución 1:16), luego se repitió el procedimiento con cada suero problema, se homogenizó aproximadamente 2 seg en el agitador. Luego se procedió a colocar 10 μ l de cada suero diluido en cada pozo de la lámina de inmunofluorescencia la cual contenía taquizoítos fijados de *Toxoplasma gondii*. Previamente en los dos primeros pozos se colocaron controles positivos y negativos.
3. Enseguida las láminas fueron puestas en una cámara húmeda y llevadas a la estufa a 37° C x 30 min.
4. Se retiraron de la estufa y el exceso de líquido de cada lámina se desechó y se colocaron las láminas en un vaso Coplin con buffer de lavado, luego se procedió a secar cada lámina x 5'.
5. Se dispensó 10 μ l del conjugado anti-gato dentro de cada pozo de la lámina, se colocó la lámina dentro de la cámara húmeda y se llevó a estufa nuevamente a 37° C x 30 min.
6. Una vez retirada de la estufa se desechó el líquido sobrante y nuevamente se sometió a la acción del buffer de lavado.
7. Se procedió a colocar 10 μ l de glicerina buferada en cada pozo, se colocó la lámina cubreobjeto.
8. Luego se llevó al microscopio de fluorescencia (Leica) para su evaluación, usando aceite de inmersión.
9. Lectura: La fluorescencia completa del taquizoíto, se interpretó como un resultado positivo, mientras que la fluorescencia parcial o ausente del taquizoíto, nos indicó un resultado negativo.

4.3 Análisis de datos

Con la finalidad de establecer la concordancia entre las 2 pruebas serológicas empleadas, los resultados obtenidos fueron analizados mediante las pruebas de Kappa para determinar el grado de concordancia entre las medidas y Mc Nemar para determinar si una medida o instrumento de medida puede reemplazar a la otra (González y Falcón, 1999).

Los datos de la fórmula se obtuvieron a partir de una tabla de contingencia de 2x2, como la que se muestra a continuación:

		Prueba A		
		Positivo	Negativo	Total
Prueba B	Positivo	A	b	n1
	Negativo	C	d	n2
	Total	f1	f2	N

Para luego aplicar la fórmula de Kappa:

$$K = \frac{N(a+d) - (n_1f_1 + n_2f_2)}{N^2 - (n_1f_1 + n_2f_2)}$$

El criterio que se usó para determinar el grado de concordancia entre los resultados fue el siguiente:

Valor de K	Grado de asociación
< 0	Muy pobre
0.00 - 0.20	Ligera
0.21 - 0.40	Regular
0.41 - 0.60	Moderada
0.61 - 0.80	Sustancial
0.81 - 1.00	Perfecta

Para la prueba de Mc Nemar se usó la siguiente fórmula:

$$XMc = \frac{(b-c)^2}{b+c}$$

El estadístico calculado se comparó con un valor tabular de Chi Cuadrado utilizando un grado de libertad y el nivel de significancia pertinente (5%)

$XMc < XMt$ las pruebas se pueden reemplazar mutuamente.

$XMc > XMt$ las pruebas no se pueden reemplazar mutuamente.

Prevalencia:

Adicionalmente se estimó la frecuencia de animales reactivos a toxoplasma, según las pruebas serológicas analizando las variables sexo y edad de los animales según las categorías consideradas.

$$p = \frac{\text{Nº animales positivos a la prueba}}{\text{Nº Animales Muestreados}}$$

Intervalo de confianza: $IC = p \pm z(0,95) \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$

n: tamaño muestra

Z: nivel de confianza (valor tabular 1,96) con 95% de confianza

p: frecuencia

V. RESULTADOS

Cuadro 1. Frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* mediante las técnicas de HAI e IFI, según edad y sexo, en gatos de Lima, 2007

Variables	Total	HAI		IFI	
		Positivos	% \pm IC	Positivos	% \pm IC
	178	20	11,2 \pm 4,6	32	17,9 \pm 5,6
Edad					
6 meses a <1 año	27	2	7,4 \pm 9,8	2	7,4 \pm 9,8
> 1 a 7 años	123	14	11,3 \pm 5,6	23	18,7 \pm 6,8
> 7 años	28	4	14,2 \pm 12,9	7	25,0 \pm 16,0
Sexo					
Macho	96	9	9,3 \pm 5,8	14	14,5 \pm 7,0
Hembra	82	11	13,4 \pm 7,3	18	21,9 \pm 8,9
Total	178		11,2 \pm 4,6		17,9 \pm 5,6

En el cuadro 1 se observa que las frecuencias de gatos domésticos seroreactores a *Toxoplasma gondii* mediante las pruebas de HAI e IFI, fueron de 11.2 \pm 4.6% (20/178) y 17.98 \pm 5.64% (32/178) respectivamente. Además se muestran las frecuencias para los diferentes grupos etáreos, no mostró diferencia significativa mediante la prueba de Chi cuadrado ($p>0.05$).

Del mismo modo los resultados según el sexo no mostraron diferencia estadística significativa en ninguna de las dos pruebas utilizadas.

Cuadro 2. Titulación y clasificación de la fase clínica de sueros positivos a *T.gondii* según la técnica de HAI (con y sin Mercaptoetanol), en gatos de Lima, 2007.

Sueros Analizados	HAI		Fase Enfermedad
	Sin 2-Mercaptoetanol	Con 2-Mercaptoetanol	
n = 8 40%	1/64 (2)	1/16	Fase Aguda
	1/128 (1)	1/16	
	1/256 (2)	1/16	
	1/256 (1)	1/32	
	1/256 (2)	1/64	
n = 12 60%	1/32 (3)	1/32	Fase Crónica
	1/64 (1)	1/64	
	1/128 (3)	1/128	
	1/256 (5)	1/256	

() Número de sueros por titulación

Cuadro 3. Distribución de los sueros de gatos según los resultados de las técnicas de HAI e IFI para la detección de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*, en la ciudad de Lima, 2007

		Prueba A		
		Positivo	Negativo	Total
Prueba B	Positivo	20	0	20
	Negativo	12	146	158
	Total	32	146	178

Los resultados obtenidos con los sueros de prueba de HAI e IFI se muestran en el cuadro 3, observándose un valor de Kappa de 0.73; que se interpreta como que la concordancia más allá del azar ofrecida por las dos prueba es substancial; mientras que la prueba de Mc Nemar muestra significancia estadística al nivel de significancia 5% ($p < 0.05$), indicando que ambas técnicas no se pueden reemplazar mutuamente.

VI. DISCUSIÓN

La toxoplasmosis es una zoonosis de amplia distribución geográfica, habiendo sido reportada en todos los continentes por innumerables autores. La literatura mundial reporta en el hombre una prevalencia muy amplia en diferentes países así en Estados Unidos y Gran Bretaña en diferentes estudios se hallaron prevalencias entre 16-40% mientras que en la población de América Latina y Europea se halló prevalencias entre 50-80% (Acha y Szyfres, 2003); por lo que la variabilidad en la frecuencia de infección está ligada a diversos factores, tales como: patrones culturales de la población, hábitos alimenticios, etc. La gran dispersión del parásito puede ser determinada por la posibilidad de presentar varios mecanismos de transmisión: ingestión de quistes tisulares en carnes mal cocidas, ingestión de ooquistes presentes en las heces de los felinos en los alimentos y agua contaminadas, entre otros (Sánchez *et al.*, 1989).

Los felinos constituyen el punto clave en la epidemiología de la toxoplasmosis por ser los hospederos definitivos del *Toxoplasma gondii*, y donde se realiza la fase sexual, con la evidente producción y eliminación de ooquistes, los cuales al ser eliminados conjuntamente con las heces, van a contaminar el medio ambiente, pudiendo así infectar a otros hospederos. Además, se ha comprobado una correlación positiva y significativa entre los títulos de anticuerpos de los humanos con los de los felinos, y de los humanos con los caninos, lo que puede estar relacionado al hecho de que el hombre comparte las mismas vías de transmisión en relación a los caninos; y en relación a la correlación humano y felino, la presencia de los gatos es probablemente la causa de esa correlación positiva (García *et al.*, 1999).

La importancia de la toxoplasmosis en términos de salud pública, reside en el hecho de que esta zoonosis representa una causa importante de alteraciones neonatales como lesiones oculares, microcefalia, hidrocefalia, calcificaciones cerebrales, alteraciones psicomotoras y retardo mental, y en pacientes inmunocomprometidos, como en los casos de SIDA, en los cuales ocurre reactivación de la forma latente. En esos casos podemos tener el desenvolvimiento de encefalitis toxoplásmica, siendo una de las principales causas de mortalidad (Amato Neto *et al.*, 1982).

El diagnóstico laboratorial de la toxoplasmosis es de gran importancia. Una vez que la infección es establecida tanto en el hombre como en los animales, puede mostrar cuadros clínicos fácilmente confundidos con otras enfermedades, dificultando la toma de medidas específicas para el tratamiento y control (Da Silva *et al.*, 2002). Entre las pruebas serológicas disponibles para el diagnóstico de toxoplasmosis se cuentan con las pruebas de fijación de complemento, (Nicolaus y Ravelo, 1937), Sabin-Feldman, (Sabin y Feldman, 1948), Hemaglutinación, (Jacobs y Lunde, 1957), Inmunofluorescencia, (Goldman, 1957) y ELISA, (Venkatesan y Wakelin, 1993) citados por Suárez *et al.*, 2002. Sin embargo, su uso depende de las facilidades de equipos y reactivos con los que el laboratorio disponga.

De acuerdo a los resultados (Cuadro 1) la frecuencia de anticuerpos anti *T. gondii* obtenida en los gatos evaluados fueron de 11,2 y 17.9% mediante las técnicas de HAI e IFI respectivamente. Al comparar estos resultados con los hallazgos obtenidos en felinos domésticos en diferentes países, podemos deducir que estas cifras fueron inferiores a los 33,0y 32.3% hallados en Chile y España por (Ovalle *et al.*, 2000) y (Miró *et al.*, 2004) respectivamente mediante la técnica de IFI ; así también (Pacheco *et al.*, 2003) encontraron un 37% de animales seroreactores mediante la técnica de HAI en Brasil.

Por otro lado otros estudios realizados en Brasil por (Langoni *et al.*, 2001), obtuvieron un 19.4% de gatos seropositivos mediante la técnica de IFI, mientras que en Jerusalén se halló un 16.8% mediante la técnica de ELISA (Deeb *et al.*, 1985), los resultados del presente estudio se encuentran dentro del tercio inferior de las

prevalencias esperadas a nivel mundial, la cual varía en gatos entre 9 y 74,0% (Tenter *et al.*, 2000).

Es frecuente asociar la ocurrencia de Toxoplasmosis con la frecuencia del gato. Sin embargo, al comparar la alta prevalencia obtenida en este estudio (17,9%) con la seroprevalencia en el hombre a nivel mundial, que se halla en un promedio del 60% (Amato Neto *et al.*, 1995), podemos asumir que los factores de riesgo en el hombre para adquirir esta enfermedad son mayores en comparación con el gato. Por lo que el temor de adquirir tal enfermedad no radica exclusivamente con la tenencia de gatos, sino más bien tenemos que considerar los hábitos culturales y costumbres de una población.

Se sabe que la frecuencia de anticuerpos contra toxoplasma en la población felina es diversa y está relacionada al tipo de población estudiada, hábitos alimenticios entre otros, dado que todos nuestros animales de estudio poseían domicilio conocido y la mayoría de ellos se encontraban recibiendo alimento casero, por lo que el porcentaje de seroreactores resultó inferior al hallado en la mayoría de poblaciones de gatos callejeros, como se muestran en trabajos de (Sogorb *et al.*, 1972) quienes obtuvieron reacciones de 50,9% de los sueros felinos estudiados en San Paulo – Brasil.

Las seroprevalencias son usualmente elevadas en gatos felinos salvajes que en felinos que viven en zonas urbanas. La seroprevalencia de *T. gondii* en gatos doméstico de Europa varían entre el 9 al 74% mientras que en Italia, Francia, Alemania las seroprevalencias fueron de 33, 43 y 46% respectivamente: En América del Sur las seroprevalencias encontradas fueron de 20, 40 y 73% en Argentina, Chile y Brasil respectivamente y en América del norte fueron hallados el 22 y 71% de gatos seroreactores tanto en USA y México respectivamente mostrando evidencia serológica de exposiciones al parásito. Además seroprevalencias de infección por *Toxoplasma gondii* en Asia han sido estimadas dentro de un rango del 6 al 9% (seroprevalencias de 7, 8 y 9% en Singapur, Taiwán y Japón respectivamente). Todas estas variaciones observadas en diferentes países se deberían a diferentes factores tales como, localización geográfica, condiciones ambientales, hábitos culturales de los pueblos, principalmente en la alimentación, tipo de fauna, grado de desenvolvimiento del país y infraestructura hídrica y sanitaria (Tenter *et al.*, 2000).

Tanto la presencia de anticuerpos heterófilos como la aparición de IgM, característica del período agudo de la parasitosis, se investigan empleando tratamiento con 2-mercaptoetanol (2-ME) y eritrocitos no sensibilizados para control y absorción de heterofilia. En los sueros de pacientes con infección aguda tratados con 2-ME, se observa una caída del título en por lo menos dos diluciones comparados con los mismos sueros sin tratar con 2-ME (Wiener lab, 2000).

La distribución de los títulos de anticuerpos en los felinos estudiados mediante HAI y el empleo del 2-ME mostró que el 60% de los animales seropositivos presentaban IgG (cuadro 2), por lo que la fase predominante en los animales seropositivos era la fase crónica de la enfermedad. La persistencia crónica de títulos IgG altos simplemente refleja que continúa la persistencia de antígenos de toxoplasma. La documentación de un título Ig M positivo o un título IgG o IgA creciente (cuadruplo) puede verificar una infección reciente, pero no necesariamente la eliminación de los oocistos (Green, 2000). Por otro lado, sólo el 40% de los gatos se hallaba en la fase aguda, en esta etapa los felinos pueden eliminar millones de ooquistes en un solo día y éstos bajo condiciones de humedad y temperatura adecuada pueden sobrevivir en el medio ambiente por más de 1 año (Dubey y Beattie, 1988). El diagnóstico temprano de la infección aguda con *Toxoplasma gondii* es complicada, por la prevalencia de altos títulos de IgG contra toxoplasma en individuos normales de la población y el hecho de que los anticuerpos de tipo IgM persisten en algunos individuos durante meses o años después de la infección aguda (Green, 2000).

En lo que respecta a las frecuencias de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* según grupos etáreos, evaluados mediante los métodos de HAI e IFI se observó que ésta se incrementa conforme aumentaba la edad, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas significativas, resultados que se asemejan a estudios realizados por (Jackson *et al.*, 1987); (Langoni *et al.*, 2001); no obstante, en otros estudios se comprueba el incremento de la seropositividad con las edades ($p < 0,0005$) (Dubey *et al.*, 1995). Existe un mayor riesgo de hallar seroreactores según se incrementa la edad toda vez que a mayor edad existe un mayor riesgo de exposición y la probabilidad de infectarse se haría mayor.

En nuestro muestreo sólo se tomó sangre de animales mayores de 6 meses, debido a la posibilidad de transferencia de IgG a partir de madres infectadas a sus crías a través del calostro, los cuales persisten durante 8 a 12 semanas después del nacimiento (Dubey y Lappin, 2000).

Por otro lado, no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre sexos en ninguna de las dos técnicas evaluadas, coincidiendo con los resultados similares obtenidos por otros autores (Deeb *et al.*, 1985; Ovalle *et al.*, 2000; García *et al.*, 1999; Smielewska-Los y Pacon, 2002; Gauss *et al.*, 2003). Sin embargo, (Miró *et al.*, 2004), en España mostraron una seroprevalencia significativamente mayor en machos que en las hembras. Explicándose que la elevada prevalencia en machos se deberían a los hábitos territoriales asociados a ellos, porque éstos tienen un área de operación más amplia que las hembras (Smith *et al.*, 1992).

Para establecer la concordancia entre los resultados de las técnicas de HAI e IFI, se aplicó el coeficiente de Kappa entre las pruebas serológicas empleadas y además se empleó la prueba Mc Nemar para determinar si una prueba puede ser reemplazable con la otra, obteniéndose un valor de kappa de 0.73; y valor de Mc Nemar que muestra significancia estadística ($p < 0.05$), entendiendo que las pruebas no se pueden reemplazar mutuamente. Al respecto (Ishizuka *et al.*, 1986) efectuó un estudio comparativo de las técnicas de IFI y HAI, para anticuerpos anti-*T. gondii*, en porcinos, obteniendo un índice de kappa de 0,69 y Mc Nemar con diferencia significativa. De la misma manera Germani y Pacheco. (2002) obtuvieron en cerdos un índice de kappa de 0,46 y un Mc Nemar con diferencia significativa. Recientemente en Perú (Huerta, 2005) en ovinos obtuvo un valor de kappa de 0,24, estos valores aunque fueron menores a nuestro índice de Kappa, sin embargo, evidencia que ambas técnicas no pueden reemplazarse mutuamente.

Por Figueiredo *et al.* (2001) estudios realizado en cabras en Minas Gerais (Brasil), al comparar tres técnicas diagnósticas para *Toxoplasma gondii* hallaron un 19, 19.5 y 19.5% para IHA, IFI y ELISA respectivamente, revelando resultados concordantes positivos y negativos (97.7%). Por otro lado en humanos se comparó el uso de HAI e IFI y ELISA, obteniendo 38 positivos para ELISA, 48 en IFI y 39 en HAI,

de un total de 100 muestras, aquí los resultados concuerdan con los del presente estudio ya que confieren una mayor positividad para IFI, y esto se puede atribuir a la falta de detección de antígenos de superficie, los primeros en ser formados, por parte de la prueba de HAI (Camargo *et al.*, 1998).

Un aspecto importante en el diagnóstico de la Toxoplasmosis es hallar una técnica con alta sensibilidad y especificidad, además de fácil aplicación, por lo que se han realizado diferentes estudios que muestran concordancia entre otras técnicas diagnósticas como IFI Y MAD (Método de Aglutinación Directa) así, Da Silva *et al.* (2002) al evaluar mediante la técnica de IFI 100 sueros tanto de ovinos, caprinos, caninos y felinos, obtuvieron seroreactores a toxoplasma de 23, 8, 18, y 18% respectivamente y mediante la técnica de MAD halló 27, 11, 19, y 19% de seroreactores respectivamente. Además obtuvo un índice de kappa que varió entre 0,59 a 0,84 lo que reveló concordancia entre las dos técnicas estudiadas. Así mismo, Sacco *et al.* (1979) al trabajar con sueros de 13 gatos, encontró un mayor porcentaje de sueros reactivos a MAD (66,7%) que a IFI (46,7%), mientras que Abate *et al.* (1989), al examinar 93 sueros de gatos, obtuvieron una concordancia entre las pruebas de MAD e IFI de 0,76, no encontrándose diferencia significativa entre las mismas. Por otro lado, Ljungstrom *et al.* (1994), demostraron concordancia perfecta con un valor de kappa de 0,93 entre las técnicas de IFI y MAD en un estudio donde se analizaron 60 muestras de sueros de gatos.

En los últimos años, el incremento de tenencia de animales domésticos viene en aumento y a su vez el conocimiento de las enfermedades zoonóticas ha cobrado mayor importancia por parte de los propietarios e investigadores, por lo que actualmente existe un mayor interés en conocer si su mascota presentó dicha parasitosis, además de poder elegir una técnica de confiable diagnóstico. Los resultados en el presente estudio demostrarían que los gatos domésticos caseros de diferentes distritos de Lima mostraron moderada seroreacción con el *Toxoplasma gondii*, al mostrar valores menores a los reportados en diferentes ciudades de Sudamérica, siendo probable que valores similares se hallen en felinos domésticos caseros de otros distritos de Lima y Callao.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La estimación de la frecuencia para anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en gatos en Lima metropolitana fue moderada: $11.2 \pm 4.6\%$ (20/178) por el método de HAI y $17.9 \pm 5.6\%$ (32/178) por el método de IFI para cada una de las pruebas respectivamente.
- No se observaron diferencias estadísticas significativas entre los reactores a toxoplasma para las variables sexo y grupo etario.
- El grado de asociación encontrado entre las técnicas de HAI e IFI para detectar anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en gatos en Lima metropolitana, fue de tipo substancial al hallarse un valor de Kappa (K) igual a 0.73.
- Mediante la prueba de Mc Nemar se encontró que existe diferencia significativa entre las técnicas de HAI e IFI y que dichas pruebas no son reemplazables entre sí, es decir, ambas técnicas son independientes en su uso.
- Se recomienda realizar mayores estudios en gatos, que permitan dilucidar la verdadera implicancia del *Toxoplasma gondii* en esta especie y los factores que están implicados en la transmisión de esta enfermedad.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abate, O.; S. Gasbarra.; U. Dotta.1989. Toxoplasmosi: indagine sul titolo anticorpale in cani e in gatti sani e portatori di patologie. Veterinaria (Cremona). 3:19-24.
2. Acha, P.; B. Szyfres. 2003. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 3ª ed. p 88-96. Vol. III. Parasitosis. Publicación Científica y Técnica N°580. OPS.
3. Amato Neto V. 1971. Toxoplasmosis: Aspectos clínicos, diagnósticos, terapéuticos y profiláticos. Rev. Paul. Med. 77: 151-156.
4. Amato Neto, V.; R. Campos.; R. Baruzzi.; M. Duarte. 1982. Toxoplasmosis. 155p Sarvier São Paulo.
5. Amato Neto V.; E. Meideiros.; G. Levi; M. Duarte. 1995. Toxoplasmosis. 4ª Ed Sarvier. p 154. Sao Paulo, Brasil.
6. Atías, A.; E. Thiermann. 1994. Parasitología clínica. 3ª ed. p 269-282. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago de Chile.
7. Barriga, O. 1997. Inmunología de las infecciones parasitarias. En: Parasitología médica. A. Atías. p 67-101. Ed. Mediterráneo. Santiago-Chile.
8. Bastein, P. 2002. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. Transaction of The Royal Soc of Trop Med and Hyg. Suppl 1 : 205-215
9. Black, M.; J. Boothroyd. 2000. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. Microb and Molec Biol Rev. 64 (3): 607-623.
10. Blood, D; O. Radostits. 1992. Medicina Veterinaria. 6a ed. p 1083-1087. Ed. Interamericana. España.
11. Borbolla, M.; R. Izquierdo.; O. Piña.; G. Martínez.; D. López.; J. Ulan. 2005. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii*. Salud Tab. 11(3) : 394-399.

12. Borchert, A. 1964. Parasitología Veterinaria. p 653-663. Ed. Acribia. Zaragoza-España.
13. Burney, D.; M. Lappin.; M. Spilker.; L. McReynolds. 1999. Detection of *Toxoplasma gondii* parasitemia in experimentally inoculated cats. Journal of Parasitology. 85, 947-951.
14. Bustamante, J. 1999. Estudio comparativo de frecuencias de toxoplasmosis en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria- UNMSM. Perú. 47 p.
15. Caldas, P. 2005. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en una empresa ganadera de la Sierra Centra-Junín. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 77 p.
16. Camargo, A; A. Silva; H. Marrocos; J. Rosenail; L. Olivera; R. Falcao. 1998. Estudio comparativo entre diferentes métodos para diagnóstico da toxoplasmose humana . Newslab. 28:121-128.
17. Cole, C.; V. Sanger.; R. Farell.; J. Kornder. 1954. The present status of toxoplasmosis in veterinary medicine. North Am Vet. 35: 265-270.
18. Contreras, O.; A. Tejada. 1974. Estudio serológico sobre toxoplasmosis en ganado ovino beneficiado en Lima-Perú. Parasitología. Lima-Perú 147-153 p.
19. Cordero del Campillo, M.; F. Rojo-Vásquez.; A. Martínez.; M. Sánchez. 1999. Parasitología veterinaria. p 333-341, 484-485, 583, 665-669. Ed. Interamericana. España.
20. Córdova. C. 2005. Toxoplasmosis: Zoonosis de la actualidad (una revisión). Tesina. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 88 p.
21. Daniel, W. 1996. Bioestadística base para análisis de las ciencias de la Salud 5ta edición. p 205-206. Editorial Limusa. México.
22. Da Silva, A; A. Cutolo; H. Langoni. 2002. Comparação da reação de Imunofluorescência Indireta e do método de Aglutinação Direta na detecção de anticorpos anti-Toxoplasma em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. Arq. Inst. Biol. São Paulo. 69 (1): 7-11.
23. Deeb, J; M. Sufan; R. Di Giacomo. 1985. *Toxoplasma gondii* infection of cats in Beirut, Lebanon. Am. J. Trop. Med. Hyg. 88: 301-306.
24. Dubey, J. 1986. A review of Toxoplasmosis in cattle. Veterinary Parasitology. 22: 177-202.

25. Dubey, J. 1994. Toxoplasmosis. JAVMA. 205: 1593-1598.
26. Dubey, J. 1995. Toxoplasmosis. JAVMA. 273: 35-40.
27. Dubey, J.; C. Beattie. 1988. Toxoplasmosis of animal and man. Florida, Boca Raton: CRC Press, p 320.
28. Dubey, J; M. Lappin; P. Thulliez. 1995. Long term antibody responses of cat fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. J Parasitology. 81(6): 887-893.
29. Dubey, J. 1996. Infectivity and Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* Oocysts for cats. The Journal of Parasitology. 82(6): 957-961.
30. Dubey, J; M. Lappin. 2000. Toxoplasma y Neosporosis en: Enfermedades infecciosas en perros y gatos 2a ed p 542-553. Mc Graw Hill Interamerica México.
31. Dubey, J. 2004. Toxoplasmosis – a waterborner zoonosis. Veterinary Parasitology. 126: 57-72.
32. Dubey, J.; Levy, M.; Sreekumar, C.; Kwok, O.; Shen, S.; Dahl, E.; Thulliez, P. y Lehman, T. 2004. Tissue distribution and molecular characterization of chicken isolates of *Toxoplasma gondii* from Perú. Journal Parasitology. 90(5): 1015-1018
33. Dumetré, A.; M Dardé. 2003. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples?. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews. 27: 651-661.
34. Duran, E.; I. Mirazo.; A. Combol. 1997. Experiencias clínicas Toxoplasmosis cerebral en pacientes con sida. Parasitologia al día. vol. 21(3-4):123-128.
35. Feng, X.; M. Milhausen. 1999. Localization of *Toxoplasma gondii* in feline intestinal tissue using PCR. Jounal of parasitology. 85:1041-1046.
36. Figueiredo J.; D. Silva.; D. Cabral.; J. Mineo. 2001. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats by the indirect haemagglutination, immunofluorescence and immunoenzimatic tests in the region of Uberlândia, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 96(5):687-692.
37. Figueiró. E.; A. Antunes.; F. Almeida.; V Gonçalves.; C. Botelho.; M. Silvério.; G. Duarte. 2005. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. Rev Bras Ginecol Obstet. 27(8): 442-449.
38. Freij. B.; J. Server. 1991. Toxoplasmosis. Red Book / Pediatrics in Review/ Self – Assessment Exercises. 12(8) 24p.

39. Frenkel, J. 1986. La inmunidad en la toxoplasmosis. Bol. Of. Sanit. Panam. 100(3):283-299.
40. Freyre, Á. 2005. Toxoplasmosis en la Majada. Disponible en: <http://www.fvet.uy/parasito/majada.htm> (20/08/2007)
41. Freyre, A.; J. Bonino.; J. Falcón.; D. Castells.; J. Méndez.; A. Lasaretto.; C. Gedda.; P. Scremini.; J. Pereira.; A. Amir.; A. Caresani. 1996. Evaluación de las pérdidas económicas debidas a toxoplasmosis en ovinos en el Uruguay. Parasitología al día. 20 (3-4): 100-108.
42. Fulton, J.; J. Turk. 1959. Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. Lancet. 12(2): 1068-1069.
43. García, J; L. Garcia; T. Navarro; L. Ogawa; R. Claret. 1999. Seroepidemiología da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do Município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. Ciência Rural, Santa Maria. 29(1): 99-104.
44. García, M. 2002. Estudio de las zoonosis parasitarias de localización ocular en el instituto de Oftalmología (INO) durante el período 1985-1999. Tesis de Médico veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 65 p.
45. Galván, M.; Y. Castillo.; M. Espinoza.; M. Bojorques.; L. Rodríguez.; R. Bernal.; I. Cañedo.; L. Espinoza.; D. Correa. 2005. Acute Infection of *Toxoplasma gondii* and cytomegalovirus reactivation in a pediatric patient receiving liver transplant. Transplant Infectious Disease. 8: 233-236.
46. Gauss, C; A. Almer; A. Ortun; F. Garcia; J. Dubey. 2003. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from Barcelona. Spain J. Parasitol. 89, 1067–1068.
47. Germani, C; F. Pacheco. 2002 Comparação entre os testes de imunofluorescencia indirecta e hemaglutinação indirecta para detecção de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* em soros de suínos. Acta Scientiae Veterinariae. 30(3):185-189.
48. Goldman, M. 1956. Observations on some problems encountered in the routine performance of the dye test for Toxoplasmosis. J. clin. Path. 9: 55-58.
49. Gómez, F.; A. Chávez; E. Casas; E. Serrano; O. Cárdenas. 2003. Determinación de la seroprevalencia de toxoplasmosis en alpacas y llamas en la Estación Experimental INIA-Puno. Rev. Inv. Vet. Perú. 14: 49-53.
50. Gondim, L.; J. Barbosa.; F. Ribeiro.; H. Saeki. 1999. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. Veterinary Parasitology, Amsterdam. 3 (82): 273-276.
51. Góngora, M. 1992. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en las comunidades alpaqueras de Vilcallamas, Bajo Llallahuá, Huanacayama, Lluta.

- Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Nacional del Altiplano. Puno. 47 p.
52. González, A.; N. Falcón. 1999. Análisis de datos en Medicina Veterinaria. Púb. Tec. FMV. Lima, p 49-57.
 53. Gorman, T.; J. Arancibia.; M. Lorca.; D. Hird.; H. Alcaino. 1999. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (lama pacos) in Chile. Prev. Vet. Med. 10 (3-4): 143-149.
 54. Gottstein, B. *Toxoplasma gondii*: perspectives for a vaccine. Schweiz. Med. Wochenschr. 65 (Supl):89S-95S, 1995.
 55. Green, C. 2000. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da ed. P 542-554. Interamericana. México.
 56. Green, M.; R. Avery.; K. Preiksaitis. 2004. Parasitic infection. American Journal of Transplantation. 4 (10): 142-155.
 57. Hand, M.; C. Thatcher.;R. Remillard.; P. Roudebush. 2000 Nutrición Clínica de los Pequeños Animales. p. 1341, 4º ed., Mark Morris, Colombia.
 58. Hayama, T. 2005. Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária. São Paulo. 108 p.
 59. Hill, D.; J. Dubey. 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clinical Microbiology and Infection. 8 (10): 634–640.
 60. Huerta, O. 2005. Concordancia entre las pruebas de Hemaglutinación Indirecta e Inmunofluorescencia Indirecta para determinar la prevalencia de *Toxoplasma gondii* en ovinos. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 54 p
 61. Hutchinson, W.; J. Dunachie.; K. Work. 1969. The fecal transmission of *Toxoplasma gondii* in the domestic cats. Acta Path. Microbiol. Scand. 74: 462-464.
 62. INEI. 1994. III Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO). Banco de datos estadísticos. Disponible en: <http://www.inei.gob.pe>
 63. Innes, E.; M. Esteban-Redondo. 1997. Diagnóstico. En: Tratado de Patología y Producción Ovina. Cap 3. L.Ortega (ed). Ed. Luzan. Madrid.
 64. Ishizuka M.; J. D'Angelino.; J. Souza. 1986. Toxoplasmose suína. II. Estudo comparativo das provas imunofluorescência indireta e hemaglutinação, para a

avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros suínos. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. 100: 524-530.

65. Jackson, M; W. Hutchison; J. Siim. 1987. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in meat animals, cats and dogs in central Scotland. Br Vet J. 143(2): 159-165.
66. Jacobs, L.; Lunde. M. 1957. A hemagglutination test for toxoplasmosis. J Parasitol. 43: 308-314.
67. Kim, K.; R Bulow.; J. Kampmeier.; J. Boothroyd. 1994. Conformationally Appropriate Expression of the Toxoplasma Antigen SAG1 (p30) in CHO Cells. Infection and Immunity. 62 (1): 203-209
68. Kirk, B. 1997. Terapéutica veterinaria de pequeños animales XII. 1ra ed. En español. Ed. Interamericana. México. P338
69. Koestner, A and Cole, C. 1962. Comparative studies of the pathogenesis of cerebral toxoplasmosis in domestic animals. IV. Int. Congr. Neuropath. 4: 297-303.
70. Kravetz, J.; D. Federman. 2005. Toxoplasmosis in Pregnancy. The American Journal of Medicine. 118: 212-216.
71. Langoni, H.; A. Silva; K. Cabral.; E. Cunha.; A. Cutolo. 2001. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 38 (5): 243-244.
72. Lappin, M.; D. Burney.; S. Dow.; T. Potter. 1996. Polymerase chain reaction for the detection of *Toxoplasma gondii* in aqueous humor of cats. American Journal of Veterinary Research. 57: 1589- 1593.
73. Larson, C.; L. Jamra.; E. Guimarães.; D. Pattoli.; H. Silva. 1980. prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. Rev. Saúde Pública. 14: 582-588.
74. Leguía, G.; H. Samamé; C. Guerrero; M. Rojas; A. Nuñez. 1987. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en alpacas. MV Rev. Cienc. Vet. 3: 19-21.
75. Leguía, G. 1996. Enfermedades Parasitarias de Perros y Gatos. Epidemiología y Control. Editorial De Mar. Lima- Perú. 114- 119 p.
76. Leguía, G. 1999. Enfermedades parasitarias de los Camélidos Sudamericanos. P 31-34. Editorial De Mar. Lima- Perú.
77. Leguía, G.; E. Casas. 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. p 31-34. Ed. de Mar. Lima.

78. Leguía, G. 2002. Enfermedades parasitarias de perros y gatos – epidemiología y control. 2ªed. P 155. Editorial La Mar. Lima- Perú.
79. Ljungstrom, B.; A. Lundén.; J. Hoglund.; G. Zakrisson. 1994. Evaluation of a direct agglutination test for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in cat, pig and sheep sera. Acta Vet Scand. 35: 213-216.
80. López, A.; N Bolotner. 2003. Actualización: Toxoplasmosis cerebral en pacientes con sida. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina. 126: 17-19.
81. Marcas, C. 2004. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas hembras de la provincia de Melgar-Puno. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 43 p.
82. Martín-Hernández, I.; S. García-Izquierdo. 2003. Toxoplasmosis en el hombre. Bioquímica. 28 (3): 19-27.
83. Massry, A.; Mahdy, O.; Ghaysh, A. 2000. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of turkeys, chickens and ducks from Egypt. Journal Parasitology. 86 (3): 627-628.
84. Mayumi, S. 2004. Efeito da infecção pelo *Toxoplasma gondii* na expressão de genes associados á resposta imune em tecidos de suínos. Tese apresentada ao Programa de Pós- graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada as Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtencao do título de Doutor em Medicina Veterinaria, São Paulo. 151 p.
85. Melamed, J.; F. Dornelles.; G. Eckert. 2001. Alterações tomográficas cerebrais em crianças con lesões oculares por toxoplasmose congênita. Journal de Pediatria. 77 (6): 475-480.
86. Merck. 2000. El Manual de Merck Veterinaria. 5ª Ed. 545-547, 1039-1040. Editorial Océano. Barcelona (España).
87. Mereiles, L. 2001. Estudo das fontes de Infecção da Toxoplasmose Humana em diferentes localidades do Estado de São Paulo. Dissertação apresentada ao Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências, São Paulo. 171p.
88. Miró, G; A. Montoya; S. Jiménez; C. Frisuelos; M. Mateo. 2004. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. Veterinary Parasitology. 126: 249–255.
89. Minovich, F.; A. Paludi.; M. Rosaano. 2002. Libro de Medicina Interna Felina Práctica. p 120-122. Ed. Aniwa Publishing. París.

90. Morussi, M.; M. Madalena.; P. Alves. 2006. Perfil serológico para toxoplasmosis em gestantes de um hospital público de Porto Alegre. Rev Bras Ginecol Obstet. 28(3): 158-164
91. Nelson, R.; C. Cuoto. 1995. Pilares de medicina interna en animales pequeños. P 726. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina.
92. Novoa, C.; A. Flores. 1991. Producción de rumiantes menores: alpacas. P 256-260. ed. Resumen. Lima.
93. Oishi, L. 2007. Caracterização biológica e genotípica de isolados de *Toxoplasma gondii* de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) do Estado de São Paulo. Tese apresentada ao Programa de Pós- graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária. São Paulo. 138p.
94. Olaya, C.; D. Flores. 2003. Guía de práctica clínica para diagnóstico y manejo de la Toxoplasmosis gestacional. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. 53(3): 165-169.
95. Ovalle, F.; A. García, A. Thibauth. 2000. Frecuencia de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* en gatos de la ciudad de Valdivia, Chile. Bol. chil. Parasitol. 55(3-4): 94-99.
96. Owen, M.; R. Clarkson.; A. Trees. 1998. Diagnosis of Toxoplasma abortion in ewes by polymerase chain reaction. Veterinary Record. 142, 445-448.
97. Pacheco, A.; N. Santos.; A. Tarnowski.; C. Beck.; R. Díaz.; C. Germani. 2003. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de gatos internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. Acta Scientiae Veterinariae, 31(2): 89- 92.
98. Pantoja, R.; L. Pérez. 2001. Reseña histórica acerca de las investigaciones relacionadas con la toxoplasmosis. Rev Cubana Med Trop. 53(2): 111-117.
99. Pastor, J.; A. Chávez; E. Casas; E. Serrano. 2003. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en vicuñas de Puno. Rev. Inv. Vet. Perú. 14: 79-82.
100. Pepper, M. 2006. The initiation of CD4+ T cell response to *Toxoplasma gondii*. Presented to the Faculties of the University of Pennsylvania in Partial Fulfilment of the Requirements of the Degree of Doctor of Philosophy. 185 p
101. Piper, R.; C. Cole.; J. Shadduck. 1970. Natural and experimental ocular toxoplasmosis in animals. Am. J. Ophthalmol. 69: 662-668.
102. Poma, E. 2003. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en alpacas (*Lama pacos*) de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac

- Amaru. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 41 p.
103. Ramirez, R. 2003. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas de comunidades de la provincia de Canchis, Cusco. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 61 p
 104. Rojas, M. 1990. Parasitismo de los Rumiantes Domésticos. Terapia, Prevención y Modelos para su Aprendizaje. Primera Edición. Lima - Perú. 326- 332 p.
 105. Rojas, M. 2003. Nosoparasitosis de perros y gatos peruanos. p 44-48. Ed. Martegraf. Lima.
 106. Ruíz, A.; M. Chinchilla.; O. Guerrero. 2005. Patología en pollos inoculados oralmente con diferentes concentraciones de ooquistes de *Toxoplasma gondii*. Parasitol Latinoam. 60: 43-47.
 107. Sabin, A.; H. Feldman. 1948. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). Science. 108: 660-663.
 108. Sacco, T.; A. Moiraghi.; A. Monte.; C. Ginanni.; E. Graziono. 1979. Epidemiologia della toxoplasmosi. Indagine sierologica sulla diffusione dell'infezione toxoplasmica in cani e gatti dell'area di Torino. Igiene Moderna. 72: 1220-1232.
 109. Sánchez. M.; M. Hernandez.; A. Carvajales. 1989. Aspectos seroepidemiológicos de la toxoplasmosis en 2 Municipios de la Provincia de Ciego de Avila. Rev Cubana de Med Trop. 41: 214 225
 110. Sanger, V.; D. Chamberlain.; K. Chamberlain.; C. Cole.; R. Farrel. 1953. Toxoplasmosis. V. Isolation of *Toxoplasma* from cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 123: 87-91.
 111. Saravia, P.; A. Chávez.; E. Casas. 2004 Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas de una empresa pecuaria en Melgar, Puno. Rev. Inv. vet. Perú. 15(1): 49-55.
 112. Scout, P. 2004. Immunoparasitology. Immunological Reviews. 201: 5-8.
 113. Servicio de Salud Pública (USPHS) y Sociedad de Enfermedades Infecciosas (IDSA). 2001. Prevención de las infecciones oportunistas en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Pan Am J Health. 10 (2): 125-128.
 114. Silva, N.; E. Chaplin.; L. Mendez.; A. Araujo. 1981. Determinação de anticorpos em soros de suínos abatidos em matadouros, na região do Alto Taquarí RS, Brasil. Arq. Fac. Vet. Ufrgs Porto Alegre. 9:33-38.

115. Simpson, K.; B. Craig.; D. Gunn-Moore. 2005. Suspected toxoplasma associated myocarditis in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 7: 203-208.
116. Smielewska-Los, E; J. Pacon. 2002. *Toxoplasma gondii* infection of cats in epizootiological and clinical aspects. *Pol. J. Vet. Sci.* 5: 227–230.
117. Smith, J. 1991. Foodborne Toxoplasmosis. *Journal of Food Safety*. 12: 17-57.
118. Smith, K; J. Zimmerman; S. Patton; G. Beran; H. Hill. 1992. The epidemiology of toxoplasmosis on Iowa swine farms with an emphasis on the roles of free-living mammals. *Vet. Parasitol.* 42: 199–211.
119. Sogorb, F.; L. Jamra; E. Guimarães; M. Deane. 1972. Toxoplasmose espontânea em animais domésticos e silvestres, em São Paulo. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 14/15(5): 514-520.
120. Soulsby, E. 1987. *Parasitología y enfermedades Parasitarias*. p 681-692 Ed. Interamericana, México.
121. Spalding, S.; L. Ribeiro.; C. Silveira.; A. Garcia. 2003. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 36(4):483-491.
122. Stiles, J.; R. Prade.; D. Greene. 1996. Detection of *Toxoplasma gondii* in feline and canine biological samples by use of the polymerase chain reaction. *American Journal of Veterinary Research*. 57: 264-267.
123. Suárez, F.; H. Andrade.; A. Galisteo. 1999. Evaluación serológica del *Toxoplasma gondii* en suínos mediante la Prueba de ELISA. *Rev. Inv. Vet. Peru*. 10(1): 11-17.
124. Suárez, F.; H. Andrade.; A. Galisteo; O. Miguel. 2002. Concordancia de la pruebas de ELISA y hemaglutinación indirecta en el diagnóstico de la toxoplasmosis porcina *Rev. Inv. Vet. Perú*. 13:1.
125. Tejada, A.; G. Balvín. 1989. Situación actual del estudio de Toxoplasmosis en el Perú. *Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria*. p 107-121 Perú.
126. Tenter, A.; A. Heckeroth.; L. Weiss. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*. 30: 1217-1258.
127. Tizard, I. 1995. *Inmunología veterinaria*. 5ª ed. p 243-245. Ed. Interamericana. México.
128. Torres, C. 1927. Affinité de l'*Encephalitozoon chagasi* agent étiologique d'une méningoencephalomyélite congénitale avec myocardite et myosite chez l'homme. *C. R. Soc. Biol.* 97: 1797-1799.

129. Turner, C.; D. Sawa. 1990. Evidence of *Toxoplasma gondii* in an equine placenta. Veterinary Record. 127: 96.
130. Turner, C.; S. Mohammed.; D. Sawa. 1991. Detection of Toxoplasma DNA in ovine samples. Veterinary Record. 129: 436.
131. Underwood, W.; J. Rook. 1992. Toxoplasmosis infection in sheep. Comp. Cont. Ed. Vet. Pract. 14: 1543-1549.
132. Urquhart, G.; J. Armour.; J. Duncan.; A. Dunn.; F. Jennings. 2001. Parasitología Veterinaria. p 267-271. Ed. Acribia, España.
133. Velasco, O.; B. Salvatierra.; J. Valdespino.; A. Sedano.; S. Galindo.; C. Magos.; A. Llausas.; R. Tapia.; G. Gutiérrez.; J. Sepúlveda. 1992. Seroprevalencia de toxoplasmosis en México. Salud publica en México. 34 (2): 222-229
134. Venturini, M.; M. Castellano.; M. Bacigalupe. 1997. Coinfección con *Toxoplasma gondii* y virus de la inmunodeficiencia felina (FIV). Parasitología al día. 21(3-4): 81-84.
135. Venturini, M.; C. Di Lorenzo.; E. Pennimpee. 2001. Introducción al inmunodiagnóstico. Seminario Taller. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de la Plata. 57p.
136. Vidal, L. 1990. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en cabras de la provincia de Lima. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 41 p.
137. Wallace, G.; V. Zigas.; D. Gajdusek. 1974. Toxoplasmosis and cats in New Guinea. American Journal of Tropical Medicine and Journal of Hygiene. 23: 8-13.
138. Wastling, J.; M. Nicoll.; D. Buxton. 1993. Comparison of two gene amplification methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in experimentally infected sheep. Journal of Medical Microbiology. 38, 360-365.
139. Wheeler, R.; H. Wilmore.; D. Sawa.; C. Turner. 1990. Diagnosis of ovine toxoplasmosis using PCR. Veterinary Record. 126, 249.
140. Wiener Lab. Toxotest HAI. 2000. Prueba de Hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. Argentina
141. Wong, S.; J. Remington. 1993. Biology of *Toxoplasma gondii*. AIDS. 7: 299-316.